

München, 1960

**I. Zerlegung von Phosphorsäure-Estern mittels Metall-Ionen
im sauren und alkalischen Bereich**

**II. Der Einfluß von Metall-Ionen
auf den phosphathaltigen Anteil der Thrombokinas**

Bernhard Oechsner

I. Zerlegung von Phosphorsäure-Estern mittels Metall-Ionen
im sauren und alkalischen Bereich

II. Der Einfluss von Metall-Ionen
auf den phosphathaltigen Anteil der Thrombokinas

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

München

vorgelegt

von

Bernhard Oechsner

aus

Stuttgart

Mai 1960



Berichterstatter: Prof. Dr. E. Ba mann

Tag der mündlichen Prüfung: 27. JULI 1960

Druck: Steinbauer u. Hagemann, München 2

Meinen lieben Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555225_0077

Dem Vorstand des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, Herrn Prof. Dr. Eugen B a m a n n, unter dessen fördernder Anleitung die vorliegende Arbeit in der Zeit vom November 1957 bis Mai 1960 entstand, sage ich meinen tiefempfundenen Dank. Ich schulde ihm diesen Dank nicht nur für sein nie erlahmendes Interesse und seine wertvollen fachlichen Hinweise, sondern auch für das menschliche Wohlwollen, das er mir während meiner Münchner Studienzeit schenkte.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Privatdozenten Dr. Heinz T r a p m a n n für seinen ausdauernden Beistand und seine wissenschaftliche Förderung.

Dem wissenschaftlichen Mitarbeiter an der Medizinischen Poliklinik der Universität München Herrn Privatdozenten Dr. med. Nico G o o s s e n s danke ich recht herzlich für seine hilfreichen Unterweisungen bei meinen gerinnungsanalytischen Arbeiten.

Alle Professoren und Dozenten, die mir im akademischen Unterricht Anregung und Förderung angedeihen liessen, schliesse ich in meinen Dank ein.

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einleitung	1
B. Zerlegung von Phosphorsäure-Estern mittels Metall-Ionen im sauren und alkalischen Bereich	2
I. Das p_H -Bereich im Lichte der bisherigen Untersuchungen	2
II. Metallionenkatalytische Wirksamkeit im sauren p_H -Bereich	2
1. Die Abhängigkeit der metallionenkatalytischen Wirkung von der Stellung der Metalle im Periodensystem	2
2. Die Abhängigkeit des Esterumsatzes von der Katalysatorkonzentration	3
3. Der Einfluss der Esterstruktur auf die Spaltung im sauren Gebiet	11
4. Neue Probleme	13
III. Die katalytische Wirksamkeit von Ionen der vierten Nebengruppe des Periodensystems im alkalischen Bereich	13
IV. Die unterschiedliche Zusammensetzung des Thoriumhydroxyds und ihre Bedeutung für die Katalyse	14
C. Die Einwirkung von Metall-Ionen auf den phosphathaltigen Anteil der Thrombokinasen	16
Experimentalbefunde und ihre Deutung	17
D. Methodik	26
I. Angaben zu den metallionenkatalytischen Versuchen	26
1. Substrate	26
2. Metallsalze	27
3. Der Versuchsansatz	27
4. Bestimmung des anorganischen Phosphats	27
5. Allgemeines	28
II. Angaben zu den Gerinnungsversuchen	28
1. Fraktionierung und Rekombinierung der Thrombokinasen	28
2. Gerinnungsanalytische Bestimmungsmethode	28
3. Reagenzien	28
4. Blutplasmagewinnung	29
E. Zusammenfassung	30
F. Anhang für Kurven- und Tabellenmaterial	31
G. Literaturverzeichnis	45

A. Einleitung

Der Wert der Metall-Ionen-Katalyse zur Erforschung reaktionskinetischer Vorgänge sowie zur Erhellung und Stützung wichtiger biologischer Befunde steht heute ausser Zweifel. In früheren katalytischen Untersuchungen nahmen die Ionen der selteneu Erdmetalle eine bevorzugte Stelle ein (6, 7, 8).

Der erste Teil dieser Arbeit zeigt nun neue Erkenntnisse auf, die mittels katalytisch wirksamer Metall-Ionen der vierten Nebengruppe des Periodensystems gewonnen wurden. Ganz besondere Berücksichtigung finden hier die in saurem p_H -Bereich erhobenen Befunde. Sie stellen eine wesentliche Erweiterung gegenüber den Beobachtungen dar, die E. BAMANN u. M. MEISENHEIMER (16) bereits im Jahre 1938 an einigen Beispielen aufzeigen konnten.

Ein weiteres interessantes medizinisch-pharmazeutisches Problem bietet sich in der Erforschung der Thrombokinas an. Schon längere Zeit ist die blutgerinnungshemmende Wirkung der Salze seltener Erden bekannt (1, 42-45, 47, 50, 57, 60-64); wir wissen heute auch um die wichtige Rolle, die Phospholipide für ein gerinnungsaktives Verhalten der Thrombokinas spielen (54). Die Frage, ob die Ionen der seltenen Erdmetalle, deren phosphatatische Aktivität nachgewiesen ist, ihren Angriffspunkt am Phospholipoid-Anteil der Thrombokinas finden und ob damit eine Deutung für die blutgerinnungshemmende Wirkung zu geben ist, versuchen wir im zweiten Teil dieser Arbeit zu klären.

B. Zerlegung von Phosphorsäure-Estern mittels Metall-Ionen im sauren und alkalischen Bereich

I. Das p_H -Bereich im Lichte der bisherigen Untersuchungen

Bislang wurden die metallionenkatalytischen Untersuchungen, die sich mit der Hydrolyse von Phosphorsäure-Estern befassten, vornehmlich im alkalischen und neutralen p_H -Bereich vorgenommen (32, 59). In wenigen Arbeiten ist das Untersuchungsbereich auch in saures Milieu verlegt worden (22, 24, 41), wobei als Katalysatoren die Ionen des Aluminiums, Bleis, Cadmiums, Cers, Eisens, Lanthans, Magnesiums, Wismuts und Zinks Verwendung fanden. Eine katalytische Wirksamkeit dieser Metall-Ionen trat im sauren Gebiet aber nur selten und in geringem Ausmass in Erscheinung. "Ein ausgeprägtes Wirkungs-Optimum im sauren p_H -Bereich ist selbst in neueren Arbeiten, in denen ein solches durch systematische Erweiterung des Messbereiches offenbar aufgesucht worden ist, bisher nicht vorgefunden worden" (13, 41).

Im alkalischen p_H -Bereich liegen umfangreiche experimentelle Untersuchungen von E. BAMANN und W.-D. MÜTTERLEIN (20, 21) vor. Diese Autoren konnten bei der Hydrolyse einer Anzahl aliphatischer Phosphorsäure-Mono-Ester (p_H -Bereich: p_H 7 bis p_H 11) zu dem bereits bekannten Wirkungs-Optimum im schwach alkalischen Gebiet (26) ein weiteres Maximum um p_H 10 ausmessen.

Durch die Auswahl geeigneterer Katalysatoren war es nun möglich, mit unseren Untersuchungen in das stark saure p_H -Bereich vorzudringen. Dabei gelang es, durch Variierung der Katalysatormenge reizvolle und interessante Zusammenhänge aufzudecken, die sich im Hinblick auf das Spaltungsausmass im sauren Gebiet ergeben.

II. Metallionenkatalytische Wirksamkeit im sauren p_H -Bereich

1. Die Abhängigkeit der metallionenkatalytischen Wirkung von der Stellung der Metalle im Periodensystem

Die Ionen des Titans, Zirkoniums, Hafniums und Thoriums entfalten im sauren p_H -Bereich (von p_H 1 bis p_H 7) überraschenderweise katalytische Aktivität. Während die Wirksamkeit des Titans noch recht gering ist und erst bei höheren Temperaturen (z.B. 70°C) deutlicher in Erscheinung tritt, zeigen die Zirkonium- und Hafnium-Ionen bereits bei einer Temperatur von 37°C sehr gute phosphatatisch-katalytische Aktivität; am weitaus wirksamsten erweist sich bei jeder Temperatur das Thorium.

Die Reihenfolge der Wirksamkeit ist identisch mit dem chemischen Verhalten dieser Elementengruppe: Mit steigender Basizität des Oxydhydrats und mit dem steigenden elektropositiven Charakter dieser Elemente nimmt die katalytische Aktivität (im sauren wie auch im alkalischen Gebiet) vom



zu.

Eindrucksvolle Aktivitäts- p_H -Kurven ergeben sich bei der Spaltung der Glycerin- α -phosphorsäure. Die Kurven anderer untersuchter Ester zeigen einen ähnlichen Verlauf.

Die katalytische Fähigkeit, Phosphorsäure-Ester im sauren p_H -Bereich zu zerlegen, scheint eine besondere Eigenschaft der Ionen von Elementen der vierten Nebengruppe des Periodensystems zu sein; denn weder mit den Ionen der seltenen Erdmetalle noch mit denen des Zinks, Kobalts oder Nickels konnte Spaltung im Bereich von p_H 1 bis p_H 6 erzielt werden.

Bemerkenswert ist das katalytische Verhalten von Thorium-Ionen, das vermutlich auf die Zwischenstellung von Thorium im Periodensystem zurückzuführen ist. E. WIBERG (66) führt das Thorium als viertes Element der Titangruppe auf, weist jedoch darauf hin, dass es als Actiniden-Element in engen Beziehungen zu den seltenen Erdmetallen steht. Auffallend ist die Übereinstimmung der p_H -Wirkungs-Optima der Metall-Ionen von Titan, Hafnium und Zirkonium bei p_H 1.5, über deren Stellung im Periodensystem keine Zweifel bestehen. Die engen Beziehungen des Thoriums zu den Elementen der Titangruppe einerseits und denjenigen der Actinidenreihe andererseits - sowie seine Verwandtschaft zu den seltenen Erdmetallen - könnten sich durch die Verschiebung des p_H -Wirkungs-Optimums in schwächer saueren Bereich (p_H 3.7) zu erkennen geben.

2. Abhängigkeit des Esterumsatzes von der Katalysatorkonzentration

In bisherigen Untersuchungen über den Einfluss der Katalysatormenge auf den Esterumsatz ergab sich stets, dass bei gleichbleibender Substratkonzentration die Spaltung des Esters entsprechend der Erhöhung der Metall-Ionen-Konzentration zunimmt (20, 40), wobei Proportionalität nur in gewissen Grenzen gewahrt ist. Diese Messungen wurden ausschliesslich im alkalischen Gebiet vorgenommen. Ihre Ergebnisse treffen, wie wir später noch sehen werden, auch für die Ionen der vierten Nebengruppe des Periodensystems in diesem p_H -Bereich zu. Diese grundsätzlich auftretende Tendenz bleibt auch in den meisten Fällen in sauren p_H -Bereichen erhalten. Überraschenderweise zeigen sich bei der Hydrolyse mittels Thorium-Ionen in saurem Milieu andere Erscheinungen.

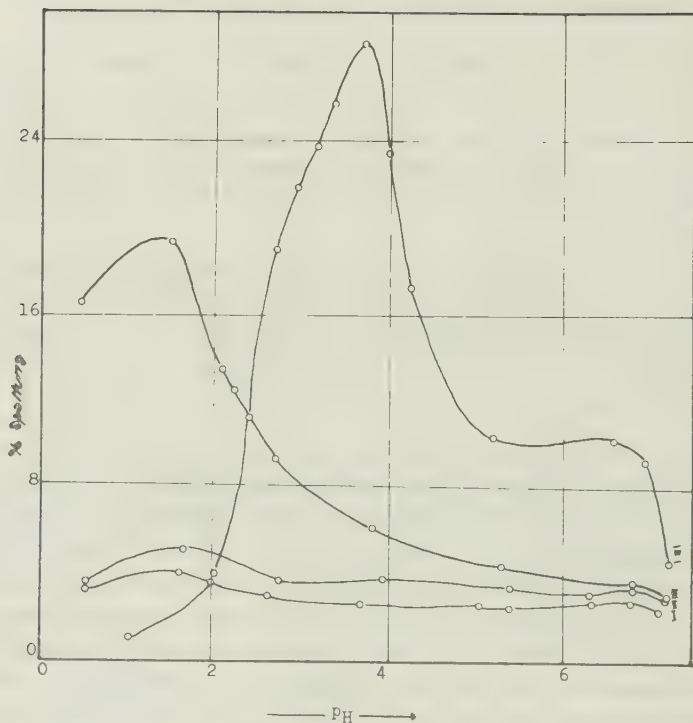


Abbildung 1

Aktivitäts-pH-Kurven bei der Spaltung von Glycerin- α -phosphorsäure mittels Titan-, Zirkonium-, Hafnium- und Thorium-Ionen

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 Mol Metallsalz, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 Ammoniumchlorid-Lösung mit n, bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$ bzw. $70^\circ C$).

- | | |
|-----------------|---|
| I = Titan: | $t=70^\circ C$; Reaktionsdauer = 24 Std. |
| II = Zirkonium: | $t=37^\circ C$; Reaktionsdauer = 24 Std. |
| III = Hafnium: | $t=37^\circ C$; Reaktionsdauer = 24 Std. |
| IV = Thorium: | $t=37^\circ C$; Reaktionsdauer = 6 Std. |

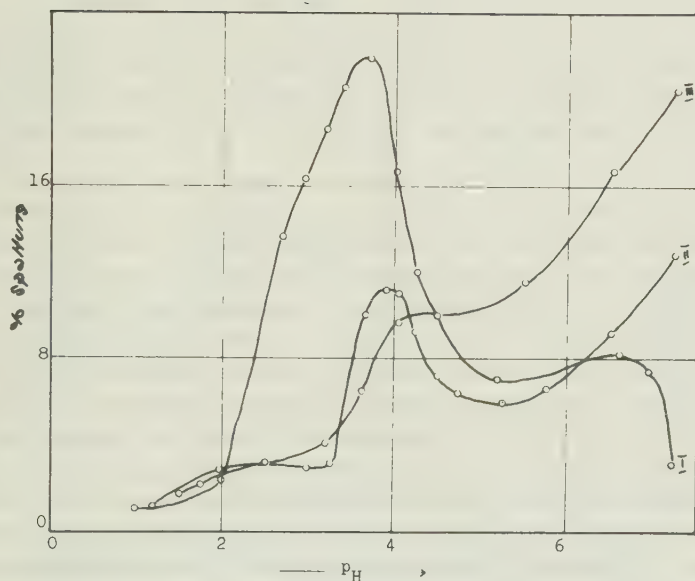


Abbildung 2

Einfluss des Konzentrationsverhältnisses Substrat:Katalysator auf die Spaltung von Glycerin- α -phosphorsäure mittels Thorium-Ionen in saurem Bereich

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$; Reaktionsdauer: 3 Stunden).

I = 0.00001 Mol $Th(NO_3)_4 \cdot 4H_2O$

II = 0.00005 Mol $Th(NO_3)_4 \cdot 4H_2O$

III = 0.0001 Mol $Th(NO_3)_4 \cdot 4H_2O$

Das Kurvenbild (Abbildung 2) gibt deutlich zu erkennen, dass innerhalb eines bestimmten p_H -Bereiches (von p_H 2 bis p_H 4) der Ester-Umsatz bei einem Verhältnis von Substrat : Katalysator = 1 : 1 wesentlich grösser ist als bei 5fach bzw. 10fach höherer Katalysatormenge.

Das günstigste Substrat : Katalysator-Konzentrationsverhältnis ergibt sich aus der p_K -Kurve, aufgenommen im p_H -Bereich optimaler Hydrolyse (p_H etwa 3.9). Aus der Abbildung 3 ist zu ersehen, dass im Falle der Glycerin- α -phosphorsäure bei einer Konzentration von 0.00001 Mol Ester auf 10 ccm Reaktionsgemisch die grösste Spaltung bei einer Zugabe von gleichfalls 0.00001 Mol Thoriumsalz erreicht wird. Eine Erhöhung bzw. Erniedrigung der Katalysatormenge hat einen geringeren Umsatz zur Folge.

Ob das bei einem bestimmten p_H für optimale Umsetzung gemessene Konzentrationsverhältnis von Substrat : Katalysator (z.B. 1 : 1 oder 1 : 5) bei höher bzw. schwächer konzentrierten Lösungen immer das gleiche bleibt, oder - was wahrscheinlicher ist - sich das optimale Konzentrationsverhältnis der beiden Partner ändert, kann noch nicht entschieden werden. Möglicherweise kann die Konstitution des Substrats eine Verschiebung des Konzentrationsverhältnisses von Katalysator zu Substrat hinsichtlich optimaler Spaltung bedingen. Einen wichtigen Hinweis hierzu gibt eine Beobachtung bei einem aromatischen Ester, beim Phenylphosphat. Der p_K -Kurve (Abbildung 4) ist zu entnehmen, dass sich in diesem Falle als günstigstes Konzentrationsverhältnis von Substrat zu Katalysator die Beziehung 1 : 5 ergibt. Vielleicht tritt auch bei anderen aromatischen Estern der Phosphorsäure die Verschiebung des optimalen Konzentrationsverhältnisses von Substrat zu Katalysator (1 : 5) auf. Die Klärung dieses Problems ist weiteren Untersuchungen zugeführt worden.

Aus den Versuchen über den Einfluss der Variierung der Katalysator-Konzentration bei gleichbleibender Substrat-Konzentration lässt sich eine Feststellung treffen, die im früher Dargelegten begründet ist: Bei niedriger Metall-Ionen-Konzentration (Verhältnis von Substrat zu Katalysator = 1 : 1) wird die saure Hydrolyse gegenüber der alkalischen sehr stark bevorzugt und das erste, in saurem p_H -Bereich liegende Spaltungs-Optimum ist somit deutlich erkennbar. Eine Mittelstellung erhält man bei dem Substrat-Katalysator-Verhältnis 1 : 5. Bei diesem Konzentrationsverhältnis sind sowohl die saure, als auch die alkalische Hydrolyse beachtlich, wodurch das in saurem Gebiet liegende Maximum sowie die beiden in alkalischen Bereichen vorhandenen Maxima stark hervortreten. Wählt man die Katalysatormenge noch höher (Verhältnis von Substrat zu Katalysator = 1 : 10), so übertrifft die Spaltung im alkalischen p_H -Bereich diejenige im sauren um ein Vielfaches. Das ursprünglich ausgeprägte Optimum bei p_H 3.7 tritt nur mehr angedeutet in Erscheinung (siehe Abbildung 5).

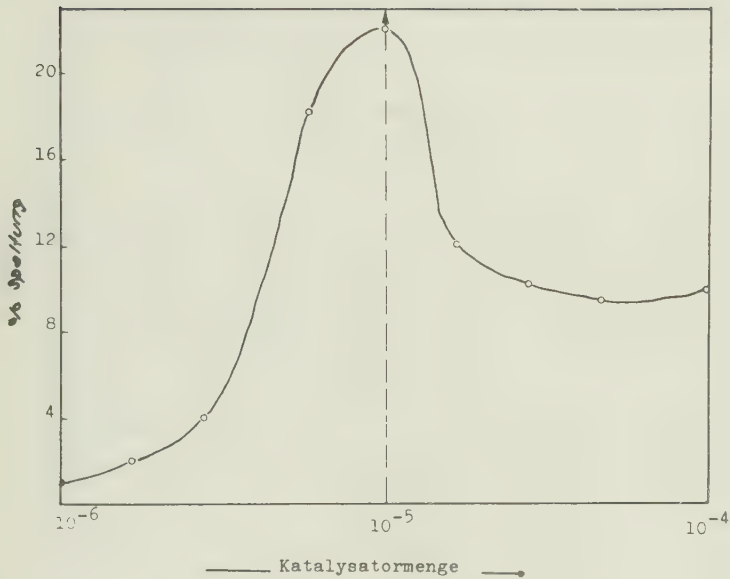


Abbildung 3

Aktivitäts- p_K -Kurve für die Spaltung von Glycerin- α -phosphorsäure mittels Thorium-Ionen im p_H -Bereich optimaler Hydrolyse ($p_H = 3.9$)

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, Thoriumsalzlösung der jeweils erforderlichen Konzentration sowie 2 ccm Ammoniumchlorid-Salzsäure-Puffergemisch zur Einstellung des p_H 3.9; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$; Reaktionsdauer = 3 Stunden).

Das günstigste Substrat:Katalysator Konzentrationsverhältnis ergibt sich aus der p_K -Kurve, aufgenommen im p_H -Bereich optimaler Hydrolyse (p_H etwa 3.9). Aus der Abbildung 3 ist zu ersehen, dass im Falle der Glycerin- α -phosphorsäure bei einer Konzentration von (0.00001 Mol

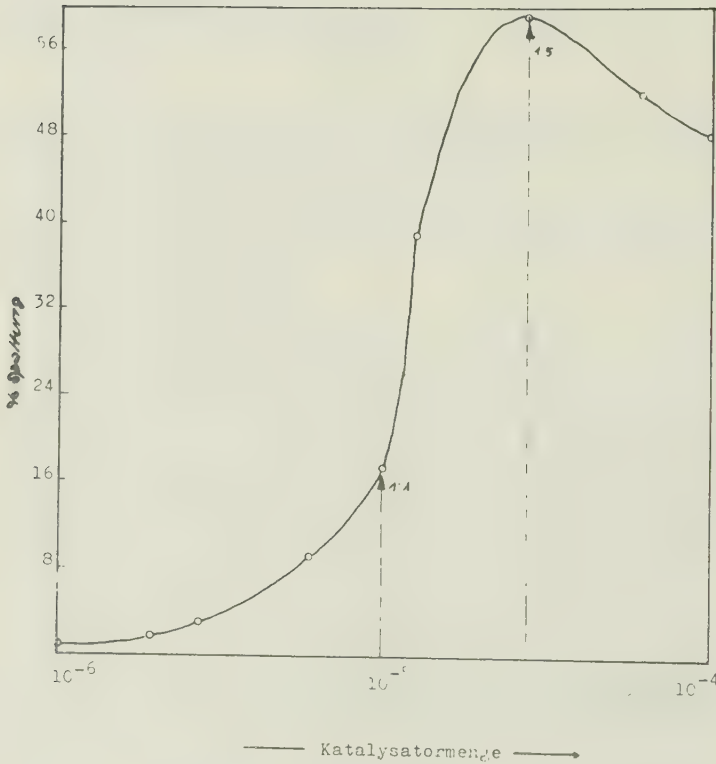


Abbildung 4

Aktivitäts- E_K -Kurve für die Spaltung von Mono-phenylphosphat mittels Thorium-Ionen bei $p_H = 3.9$

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, Thoriumsalzlösung der jeweils erforderlichen Konzentration sowie 2 ccm Ammoniumchlorid-Salzsäure-Puffergemisch zur Einstellung des p_H 3.9; Zugabefolge B; $t = 37^{\circ}C$; Reaktionsdauer = 3 Stunden).

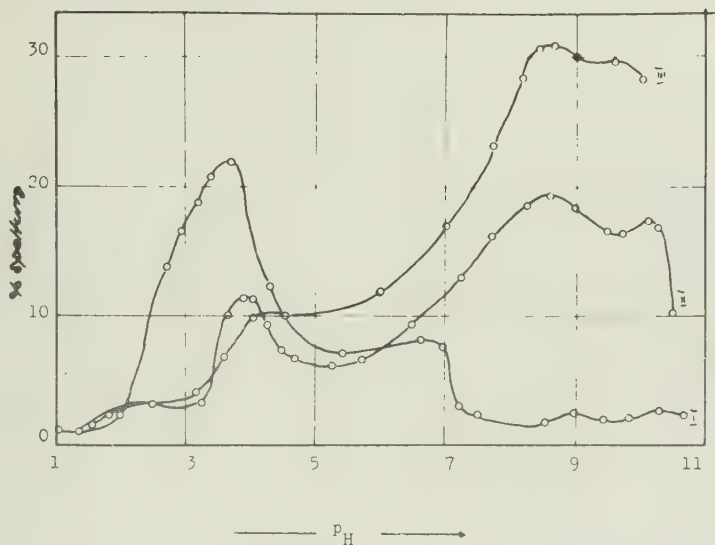


Abbildung 5

Einfluss der Variierung der Katalysator-Konzentration
auf den Verlauf der Aktivitäts- p_H -Kurven bei der Spal-
tung von Glycerin- -phosphorsäure mittels Thorium-Ionen

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester,
 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw.
 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n, bzw. 0.1 n HCl
 auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B;
 t = 37°C; Reaktionsdauer = 3 Stunden).

I = 0.00001 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

II = 0.00005 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

III = 0.0001 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

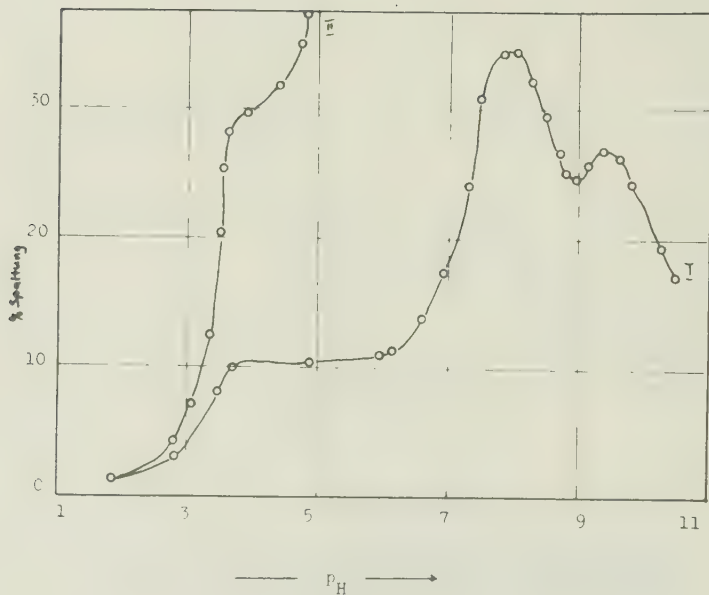


Abbildung 6

Einfluss der Variierung der Katalysator-Konzentration auf den Verlauf der Aktivitäts- p_H -Kurven bei der Spaltung von Mono-Phenylphosphat mittels Thorium-Ionen

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n, bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge n; $t = 37^\circ\text{C}$; Reaktionsdauer = 3 Stunden).

I = 0.00001 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

II = 0.00005 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Einen ganz ähnlichen Kurvenverlauf erhält man bei der Katalyse mittels Zirkonium-Ionen. Die dargelegten Umsatz-Verhältnisse beobachtet man nur an den Mono-Estern der aliphatischen Substrate. Beim Phenylphosphat wird stets die Hydrolyse im alkalischen Medium bevorzugt (Abbildung 6 und 22).

3. Der Einfluss der Esterstruktur auf die Spaltung im sauren Gebiet

Aus dem Vergleich des Verhaltens von Mono-Methyl-, Mono-Äthyl-, Mono-n-Propyl- und Mono-Phenylphosphat sowie von Glycerin- α - und Glycerin- β -phosphorsäure gegenüber Zirkonium- und Thorium-Ionen bei unserer Substratkonzentration ergibt sich, dass die Ionen des Thoriums bei sämtlichen Konzentrationen alle Ester rascher zerlegen als Zirkonium-Ionen. Besonders gute Spaltung wird bei Glycerin- α - und Glycerin- β -phosphorsäure beobachtet, weniger stark hervortretende bei Methyl-, Äthyl- und Propylphosphat. Die Spaltungsgeschwindigkeit der Substrate im sauren Gebiet ist nicht bei jedem p_H gleich gross, es zeichnet sich vielmehr auch hier - wie im alkalischen p_H -Bereich - ein deutliches p_H -Wirkungs-Optimum ab, das je nach Substrat und Katalysator eine bestimmte Lage innerhalb des Bereiches von p_H 1.5 bis p_H 4.5 hat.

Bemerkenswert ist das Verhalten des Phenylphosphats in saurem Milieu. Dieser Ester zeigt unter der Einwirkung von Thorium-Ionen sowie von Zirkonium-Ionen kein scharf begrenztes Spaltungs-Optimum, sondern die Umsetzungsgeschwindigkeit nimmt vom stärker sauren p_H -Bereich bis zum Maximum im alkalischen Gebiet (p_H 8.0) allmählich zu.

Unter den Spezifitätserscheinungen, die das Verhalten verschiedener Phosphorsäure-Mono-Ester gegenüber einem bestimmten Katalysator kennzeichnen, gelten für die (saure sowie alkalische) Thorium- und Zirkonium-Katalyse gleiche Gesetzmässigkeiten, wie sie an anderen Metall-Ionen für den alkalischen p_H -Bereich (10, 11, 15-18, 21, 23-25, 27-31, 33, 34) erkannt wurden:

Der Pheny-lester wird bedeutend besser gespalten als die aliphatischen Ester. Innerhalb der homologen Reihe der geradkettigen, aliphatischen Mono-Ester nimmt die Umsetzungsgeschwindigkeit mit zunehmender Kettenlänge des organischen Restes ab. Die Einfügung von elektronegativen Gruppen in das Estermolekül führt für die durch Thorium oder Zirkonium katalysierte Hydrolyse der Ester in sauren wie alkalischen Bereichen zur Erhöhung der Hydrolysegeschwindigkeit. Diese Beobachtung steht in Analogie zu den von E. BAMANN und W.-D. MÜTTERLEIN erhobenen Befunden (21). Beim Vergleich des n-Propylphosphats und der Glycerin- α -phosphorsäure zeigt sich, dass die Glycerin- α -phosphorsäure rascher gespalten wird als das n-Propylphosphat. Die Tatsache hingegen, dass Glycerin- β -phosphorsäure rascher als Glycerin- α -phosphorsäure durch beide Katalysatoren zerlegt wird, ist durch die bei der Glycerin- β -phosphorsäure besser zur Auswirkung kommenden koordinativ wirkenden Kräfte der OH-Gruppen bedingt.

Tabelle 1

Vergleich der Spaltungsgeschwindigkeit verschiedener Mono-Ester der Phosphorsäure unter Einwirkung von Thorium- bzw. Zirkonium-Ionen im sauren Gebiet

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00005 Mol Metallsalzlösung, 2 ccm Ammoniumchlorid-Salzsäure-Puffergemisch zur Einstellung des p_H 4; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$; Reaktionsdauer = 6 Stunden).

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an. ⁺)

Katalysator	Methylphosphat	Äthylphosphat	n-Propylphosphat	Glycerin- α -phosphorsäure	Glycerin- β -phosphorsäure	Phenylphosphat
Th	10.1	2.9	1.6	17.2	24.8	78.0
Zr	5.9	2.4	1.4	2.6	4.3	17.0

⁺) Die Unterschiede in den Spaltungswerten zwischen den jeweils ausgemessenen p_H -Optima (p_H 3,9 bis p_H 4,2) und den für die Erstellung der Tabelle 1 aus den Kurven (Abb. 7-12, Seite 33) ermittelten Werten für p_H 4 sind überaus gering und haben auf die grundsätzlichen Aussagen keinen Einfluss.

4. Neue Probleme

Die ersten bescheidenen Ergebnisse, die hier auf dem Gebiet der sauren Katalyse mittels Thorium- und Zirkonium-Ionen erhoben wurden, schöpfen noch keineswegs die Vielzahl der sich stellenden Fragen aus. Zu hoch interessanten Einblicken in das katalytische Geschehen dürften Untersuchungen führen, die sich mit der Klärung folgender Probleme befassen.

1. Unsere bisherigen Untersuchungen wurden in den Punkten optimaler Hydrolyse vorgenommen. Die Frage, ob das als günstig befundene Konzentrationsverhältnis von Substrat : Katalysator erhalten bleibt, werden Versuche klären, die die Auswirkung der Katalysator-Konzentration auf die Ester-Spaltung über den gesamten p_H -Bereich untersuchen.
2. Reizvoll erscheint es uns auch an Hand ausgedehnter p_S -Kurven in saurem und alkalischem Bereich die Affinitätsverhältnisse eingehender zu untersuchen und die hierbei gewonnenen Erkenntnisse mit Befunden zu vergleichen, die sich aus Versuchen mit unterschiedlicher Katalysator-Konzentration ergeben werden.
3. Ein weiteres Betätigungsfeld eröffnet sich in der Erforschung der sauren Katalyse an Di- und Tri-Estern der Phosphorsäure.

III. Die katalytische Wirksamkeit von Ionen der vierten Nebengruppe des Periodensystems im alkalischen p_H -Bereich

Die phosphatatische Wirkung von Zirkonium- und Thorium-Ionen ist bereits im Jahre 1938 von E. BAMANN und M. MEISENHEIMER (16) festgestellt worden. Ausserdem ist eine "peptidatische" Wirksamkeit dieser Ionen bekannt (14). Bei unseren eindringenderen Untersuchungen an Phosphorsäure-mono-Estern hat sich nun gezeigt, dass im alkalischen Gebiet für Thorium- und Zirkonium-Ionen sämtliche Gesetzmässigkeiten gelten, die mittels Ionen der seltenen Erdmetalle in früheren Arbeiten von E. BAMANN und seinen Mitarbeitern aufgestellt wurden (8, 32, 59). Die in den Tabellen 10-15 und den Abbildungen 7-37 niedergelegten Ergebnisse stellen eine weitgehende Vertiefung der bisher erhobenen Befunde dar:

- a) Die katalytische Aktivität (Zirkonium und Thorium) nimmt mit steigendem Atomgewicht der Metalle zu.
- b) Innerhalb der homologen Reihe der aliphatischen, geradkettigen Mono-Ester der Phosphorsäure besteht eine Abhängigkeit zwischen Kettenlänge des organischen Restes und der Umsetzungsgeschwindigkeit in der Weise, dass der Umsatz mit zunehmender Kettenlänge abnimmt.

- c) Der Ester mit geradkettiger Alkoholkomponente wird schneller verseift als der mit verzweigter Kette.
- d) Die Einführung eines elektronegativen Restes in das Substratmolekül beschleunigt die Hydrolyse.
- e) Phenylphosphat wird bedeutend rascher gespalten als die untersuchten aliphatischen Ester.
- f) Sämtliche untersuchten Ester zeigen im alkalischen Bereich zwei p_H -Wirkungs-Optima.
- g) Die Umsetzung des Esters nimmt bei gleichbleibender Substrat-Konzentration entsprechend der Erhöhung der Metall-Ionen-Konzentration zu, wobei Proportionalität nur in gewissen Grenzen gewährt ist.
- h) Erhöhung der Versuchstemperatur beschleunigt die Spaltungsgeschwindigkeit.

IV. Die unterschiedliche Zusammensetzung des Thoriumhydroxyds und ihre Bedeutung für die Katalyse

Die Mono-Ester der Phosphorsäure sind sehr widerstandsfähig gegen die Einwirkung von Hydroxyl-Ionen; selbst bei höheren Temperaturen bleibt die Esterbindung starken Laugen gegenüber stabil (15).

Eine wesentlich geringere Stabilität zeigen diese Ester gegenüber Wasserstoff-Ionen, ganz besonders im p_H -Bereich von 3 bis 5, wo ein ausgesprochenes Hydrolyse-Maximum auftritt (5, 49). Bei p_H -Werten < 1 nimmt das Ausmass der Spaltung des Mono-Äthylphosphats durch H-Ionen nach A. DESJOBERT wieder stark zu (38, 39).

Diese Aussagen stützen sich durchweg auf Versuche, die in sehr hohen Temperaturbereichen gemacht wurden (Siedetemperatur des Wassers bzw. des jeweiligen Versuchsansatzes). Bei unseren Experimenten, die unter physiologischen Bedingungen ($t = 37^\circ\text{C}$) stattfanden, konnte keine Eigenspaltung der untersuchten Phosphorsäure-Ester nachgewiesen werden. Selbst 120stündige Einwirkung von H-Ionen im p_H -Bereich von 1 bis 7 führt zu keiner messbaren Aufspaltung des Esters.

Die relativ starke Hydrolyse der Phosphorsäure-Mono-Ester mittels Wasserstoff-Ionen ohne katalytische Mitwirkung von Metall-Ionen bei p_H 4 im Gegensatz zum langsameren Verlauf bei p_H 1 und p_H 8 erklären W. W. BUTCHER und F. H. WESTHEIMER (35) damit, dass das Mono-Anion $\text{ROPO}_3\text{H}'$ rascher verseift wird als das Di-Anion ROPO_3'' und die undissoziierte Säure ROPO_3H_2 . Dies würde übereinstimmen mit den Befunden von A. DESJOBERT wonach das Mono-Anion bei einem p_H -Wert von etwa 4, das Di-Anion bei einem p_H -Wert von etwa 8 und die undissoziierte Säure unter p_H 4 vorliegt. Die Stabilität des Di-Anions gegenüber Hydroxyl-Ionen hätte ihre Ursache in elektrostatischen Gründen;

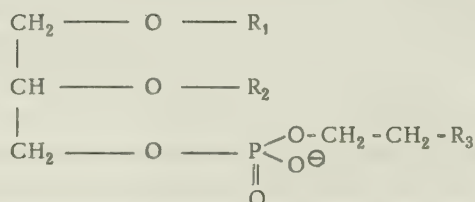
im Falle der Hydrolyse im stark sauren Milieu (unter p_H 1) würden (ein oder mehrere) zusätzliche Mechanismen dominieren, die durch die Spaltung der (C-O)-Bindung bedingt sein sollen.

Wie aber sind unsere Katalysatoren wirksam? Bei der einfachsten Form einer Katalyse ist es wichtig, dass ein leicht reagierendes Zwischenprodukt entsteht, das in einer weiteren Reaktion das Endprodukt liefert. Wie kann in unserem Falle ein solches Reaktionszwischenprodukt entstehen? Vorläufig ist es schwer, aus den wenigen Anhaltspunkten, die wir besitzen, eine endgültige Stellungnahme zu geben; doch spricht sehr dafür, dass das Zwischenprodukt im sauren p_H -Bereich durch Reaktion löslicher Hydrolyseprodukte der Thorium-Salze ($Th(OH)_2^{++}$) (52) mit dem Mono-Anion ($ROPO_3H'$) des Substrats entsteht. Die in unseren Untersuchungen zugrunde liegenden Reaktionen spielen sich unterhalb p_H 4 im homogenen Milieu ab; wir haben also klare, wasserhelle Reaktionsgemische vor uns.

Vielleicht finden unsere Befunde, die mittels Thorium-Ionen in verschiedenen Konzentrationen im sauren p_H -Bereich erhoben wurden, eine Erklärung durch die Arbeiten von J. LEFEBVRE (55) über "Die Hydrolyse des Thorium-Ions". Der Autor gibt an, dass das Thorium im p_H -Bereich von 3 bis 4.5 in verschiedenen kondensierten Komplexen vorliegt, wobei die Konzentration an Thorium auf die Zusammensetzung der Komplexe einen bedeutenden Einfluss hat: So liegt in niederen Konzentrationen das Thorium vorwiegend in der monomeren Form $Th(OH)_2^{++}$ vor. In höheren Konzentrationen ist $Th_5(OH)_{12}^{8+}$ der vorherrschende Komplex, er ist im Vergleich zu $Th(OH)_2^{++}$ wesentlich stabiler. Eine katalytische Aktivität kann jedoch nur der monokondensierten Form zugeschrieben werden, kaum aber dem pentakondensierten Komplex, da dieser infolge sterischer Hinderung der OH-Gruppen wohl nur schwerlich eine Bindung mit dem Mono-Anion des Substrats zur Bildung eines Reaktionszwischenproduktes eingehen kann. Es kommt noch hinzu, dass dieser Komplex eine grosse Stabilität aufweist und je mehr er sich bildet, desto grösser ist die fortschreitende Verminderung der Teilchenzahl in Lösung und desto mehr werden ihr die zur Katalyse befähigten Ionen entzogen. Zu einem Stillstand der Spaltung mit zunehmender Katalysatormenge kann es nicht kommen, da in der Lösung immer noch $Th(OH)_2^{++}$ -Ionen sowie nichthydrolysierte Th^{4+} -Ionen vorhanden sind. Das gleichzeitige Vorliegen dieser Ionen führte gelegentlich zu dem falschen Schluss, dass ein weniger kondensierter Komplex wie $Th_4(OH)_8^{8+}$ existiere (55).

C. Die Einwirkung von Metall-Ionen auf den phosphathaltigen Anteil der Thrombokinase

Welch wichtige Stellung die Thrombokinase bei der Blutgerinnung einnimmt, ist bekannt (46). Wir wissen auch, dass der Phospholipoid-Anteil im Thromboplastin für eine hohe Gerinnungsaktivität verantwortlich ist. R. KUHN und P. KLESSE (54) konnten in Gerinnungsversuchen unter Verwendung zahlreicher natürlicher und synthetischer Phospholipide, die sie mit dem Eiweiss-Anteil der Thrombokinase rekombinierten, nachweisen, dass für eine hohe Gerinnungsaktivität des Fermentes eine ganz bestimmte Konfiguration des Lipoid-Anteils Voraussetzung ist:



R₁ und bzw. oder R₂ müssen mindestens einfach ungesättigte Reste sein, einer der beiden Reste kann aber auch = H sein. Dagegen ist es für die Wirksamkeit bei der Blutgerinnung nicht erforderlich, dass R₃ = NH₃ (Colaminphosphatid) ist, es kann R₃ = H, Cl, OC-CH₃, NH₂ oder OH sein. R₃ = N(CH₃)₃ (Cholinphosphatid = Lecithin) zeigt keine Wirkung.

Im Jahre 1938 haben E. BAMANN und M. MEISENHEIMER (15) die Entdeckung gemacht, dass gewisse Metall-Ionen, vornehmlich die der seltenen Erdmetalle, die Eigenschaft besitzen, Phosphorsäure-Ester zu spalten. Infolge dieser phosphat-katalytischen Aktivität sind diese Ionen in der Lage, in solche Vorgänge des Stoffwechsels einzugreifen, an denen die Phosphorsäure beteiligt ist (11, 12, 33, 59).

Ferner haben die Salze seltener Erdmetalle die Fähigkeit, bei intravenöser Injektion das Blut für mehrere Stunden ungerinnbar zu machen (1, 42-45, 47, 50, 57, 60-64). Die Ursache dieser Wirkung ist wohl eingehend erörtert, aber doch noch nicht endgültig geklärt.

Das katalytische Verhalten der Ionen der seltenen Erdmetalle einerseits sowie ihr die Blutgerinnung betreffendes physiologisches Verhalten andererseits schlagen die Brücke zu einem Deutungsversuch über die Wirkungsweise der Thrombokinase. Ob der Eingriff der erwähnten Katalysatoren in das Gerinnungsgeschehen des Blutes über die Thrombokinase bzw. den Phospholipoid-Anteil dieses Fermentes erfolgt, wird durch die folgenden Ergebnisse klar gelegt.

Experimentalbefunde und ihre Deutung

Bei unseren Untersuchungen über den phosphatatischen Einfluss von Cer- und Lanthan-Ionen auf die Thrombokinasen selbst, ihren Lipoid-Anteil sowie ein bei der Rekombination als gerinnungsaktiv befundenes Kephalin, ergibt sich, dass diese Substrate dephosphoryliert werden (Tabelle 2).

Die verhältnismässig langsame Spaltung ist darauf zurückzuführen, dass es sich hier um Di-Ester der Phosphorsäure handelt (26, 33). Einen wesentlich rascheren Umsatz erfahren phosphathaltige, diesen Substraten ähnliche Verbindungen, die uns als Mono-Ester zur Verfügung stehen (Tabelle 3 und 4).

Nicht alle als spaltbar befundenen Substrate zeigen aber einen Einfluss auf die Blutgerinnung. Bei der Rekombinierung des Eiweiss-Anteils einer Kaninchenhirn-Thrombokinasen mit den jeweils vorstehend genannten natürlichen bzw. synthetischen Phospholipoiden scheiden eine Reihe von Substanzen aus, die sich nicht als gerinnungsaktiv erweisen. Einen Überblick über das Verhalten der Verbindungen gibt Tabelle 5 (S. 21).

Aus den Versuchsergebnissen ersieht man, dass das natürliche Thrombokinasen-Lipoid sowie das Kephalin der phosphatatischen Einwirkung von Cer- bzw. Lanthan-Ionen unterliegen und auch - wie schon durch frühere Untersuchungen bekannt ist (54) - einen deutlichen Einfluss auf das Gerinnungsgeschehen im Blute ausüben. Trotzdem können diese beiden Kriterien nicht für die gesuchte Erklärung der Thrombokinasewirkung herangezogen werden. Die nachstehenden Tatsachen mögen dies verdeutlichen:

Während die als gerinnungsaktiv befundenen Lipoide verhältnismässig langsam hydrolysiert werden, tritt bei intravenöser Injektion von Cer- bzw. Lanthan-Salzen das Ungerinnbarwerden des Blutes nach Minutendauer bzw. augenblicklich in Erscheinung. Die mittels Thorium- und Zirkonium-Ionen erhobenen experimentellen Befunde zeigen, dass auch diese Ionen Phospholipoide zu zerlegen vermögen; - in einigen Fällen ist das Thorium-Ion dem Cer-Ion sogar noch überlegen (vgl. Tabelle 6 mit Tabelle 2). Eine gerinnungshemmende Wirkung wird bei diesen Metall-Ionen jedoch weder in vivo, noch in vitro beobachtet (vgl. Tabelle 9).

Aus diesen Tatsachen ergibt sich, dass der Eingriff von Lanthan- bzw. Cer-Ionen in die Blutgerinnung nicht über den Lipoid-Anteil der Thrombokinasen erfolgt und somit auch nicht auf die phosphatatische Aktivität dieser Elementengruppe zurückzuführen ist.

Tabelle 2

Vergleich der Spaltung von Thrombokinasen, ihrem Lipoid-Anteil und Kephalin durch 3wertiges Cer bzw. Lanthan

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Substrat, 0.00001 bzw. 0.00005 bzw. 0.0001 Mol $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ bzw. $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Substrate in Prozenten an.

Reak- tions- dauer	Thrombokinasen			Lipoid-Anteil			Kephalin		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
(Std.)	Cer(III)								
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0,8	0	0	0	0	0	0
6	0	1.3	1.6	0	0.8	1.0	0	1.6	1.8
24	0.5	3.9	4,5	0	3.2	3.8	1.2	4.5	5.6
48	0.8	6.2	6.8	0.5	5.4	5.6	2.4	6.4	7.8
72	1.6	7.1	9.8	1.2	6.2	8.1	3.6	9.0	14.5
144	2.4	11.8	15.6	2.4	9.6	11.7	4.1	12.5	18.0

				Lanthan					
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0.8	0	0	0.5	0	0.8	1.0
24	0	0.8	1.9	0	0.5	1.2	0	1.0	2.8
48	0	1.8	2.4	0	1.6	1.9	0	2.4	3.8
72	0.5	2.4	4.5	0.5	2.2	3.2	1.6	3.2	4.7
144	1.6	3.2	6.5	1.5	3.0	5.6	2.2	5.6	10.0

Tabelle 3

Vergleich der Spaltung von α -Crotonyl- β -, α -Oleyl- β -, Dicrotonyl-, Dioleyl-glycerin-phosphorsäure, L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin und Äthanolaminphosphat durch 3wertiges Cer

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 bzw. 0.00005 bzw. 0.0001 Mol $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reaktionsdauer	α -Crotonyl- β -glycerin-phosphorsäure			α -Oleyl- β -glycerin-phosphorsäure			L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin		
	Katalysator $10^{-5} \mid 5 \cdot 10^{-5} \mid 10^{-4}$			Katalysator $10^{-5} \mid 5 \cdot 10^{-5} \mid 10^{-4}$			Katalysator $10^{-5} \mid 5 \cdot 10^{-5} \mid 10^{-4}$		
(Std.)	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	21.8	60.0	0	8.0	23.0	0	19.3	21.8
3	1.0	35.5	70.0	1.5	12.8	37.5	1.1	26.2	32.2
6	1.6	46.7	-	4.0	20.0	41.1	2.4	36.4	44.3
24	4.9	62.0	-	4.5	34.0	42.3	5.0	48.0	59.4
48	9.0	67.0	-	5.6	38.0	43.5	6.2	-	-
72	-	-	-	6.4	43.5	50.0	7.3	-	-
144	-	-	-	9.0	45.1	-	8.6	-	-

Reaktionsdauer	Dicrotonyl-glycerin-phosphorsäure			Dioleyl-glycerin-phosphorsäure			Äthanolaminphosphat		
	Katalysator $10^{-5} \mid 5 \cdot 10^{-5} \mid 10^{-4}$			Katalysator $10^{-5} \mid 5 \cdot 10^{-5} \mid 10^{-4}$			Katalysator $10^{-5} \mid 5 \cdot 10^{-5} \mid 10^{-4}$		
(Std.)	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	19.3	43.5	0	6.4	9.7	1.6	25.2	41.6
3	0	35.0	61.5	0	10.0	13.0	2.4	35.8	63.0
6	0	45.5	74.0	0.8	12.0	14.5	3.7	46.7	73.5
24	1.6	60.0	-	1.5	22.6	27.1	5.2	58.9	-
48	4.0	-	-	3.2	27.0	30.2	7.1	-	-
72	5.6	-	-	4.0	34.0	36.0	8.3	-	-
144	-	-	-	4.9	-	-	9.0	-	-

Tabelle 4

Vergleich der Spaltung von α -Crotonyl- β -, α -Oleyl- β -, Dicrotonyl-, Dioleyl-glycerin-phosphorsäure, L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin und Äthanolaminphosphat durch Lanthan

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0,00001 Mol Ester, 0,00001 bzw. 0,00005 bzw. 0,0001 Mol $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2,5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{p}_\text{H} = 8,6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reaktionsdauer (Std.)	α -Crotonyl- β -glycerin-phosphorsäure			α -Oleyl- β -glycerin-phosphorsäure			L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	2.0	3.2	0	0	0	0	1.3	1.3
3	0.8	4.8	8.4	0	0	1.3	1.1	2.4	2.4
6	1.0	9.6	13.3	0	0.8	2.4	1.9	3.2	4.5
24	2.4	18.7	40.7	0	8.0	17.3	2.5	9.7	14.5
48	3.2	33.2	54.0	1.8	12.2	25.0	3.0	15.2	22.8
72	5.0	40.0	60.0	2.4	14.4	-	3.7	17.3	26.2
144	7.1	-	70.0	3.2	18.0	-	6.6	30.8	40.4

Reaktionsdauer (Std.)	Dicrotonyl-glycerin-phosphorsäure			Dioleyl-glycerin-phosphorsäure			Äthanolaminphosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	1.5	2.0	0	0	0	0.8	2.7	3.7
3	0.5	2.4	2.8	0	0	0	1.9	3.1	4.0
6	0.8	4.0	5.6	0	0.5	1.5	2.1	4.0	5.8
24	2.0	14.5	18.5	0	6.2	15.4	2.4	7.3	11.3
48	2.8	16.0	26.6	1.6	7.8	20.8	3.2	13.9	20.4
72	3.6	-	32.0	2.0	9.5	-	3.9	19.5	27.1
144	4.7	22.0	42.0	2.8	12.4	-	-	-	-

Tabelle 5

Gerinnungsaktivität verschiedener Phospholipoide und
lipoidähnlicher Präparate

Die Zahlen geben die Zeit in Sekunden an (Mittelwerte), die von der Zugabe der CaCl_2 -Lösung bis zum Eintritt einer Gerinnselbildung gemessen wurde.

(Ausführung der Bestimmung siehe Seite 28)

	Substrat	Thrombokinasen- verdünnung	
		$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{9}$
	Physiologische NaCl-Lösung statt Thrombokinasen	210	
gerinnungsaktiv	Lipoid-Anteil (rekombiniert)	60	65
	Kephalin	120	140
nicht gerinnungsaktiv	L- α -Glycerolphosphoryl-äthylenchlorhydrin	210	210
	Äthanolaminphosphat	530	430
	α -Crotonyl- β -glycerin-phosphorsäure	330	300
	Dicrotonylglycerin-phosphorsäure	270	220
	α -Oleyl- β -glycerin-phosphorsäure	390	360
	Dioleylglycerin-phosphorsäure	360	350

Tabelle 6

Vergleich der Spaltung von Thrombokinasе, ihrem Lipoid-Anteil und Kephalin
durch Thorium bzw. Zirkonium

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0,00001 Mol Substrat, 0,00001 bzw. 0,00005 bzw. 0,0001 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ bzw. $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8,6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Substrate in Prozenten an.

Reak- tions- dauer	Thrombokinasе			Lipoid-Anteil			Kephalin		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
(Std.)	Thorium								
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0.8	0	0	0.5	0	0	1.6
6	0	2.4	3.6	0	1.2	2.8	0	3.0	4.0
24	0	4.6	10.0	0	2.4	8.7	0	4.9	11.3
48	0.8	7.8	15.2	0.5	5.6	14.4	1.5	8.0	18.6
72	2.4	10.2	19.4	1.6	9.2	18.2	3.0	11.0	24.4
144	3.2	19.2	24.0	2.4	16.8	23.5	4.5	20.0	31.0
				Zirkonium					
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0
24	0	0.5	0.8	0	0	1.1	0	0.5	0.8
48	0	1.1	2.2	0	0.8	2.1	0	1.6	2.4
72	0.5	2.4	3.8	0.5	1.9	3.6	0.5	3.2	4.0
144	1.0	4.6	8.2	0.8	3.2	6.8	1.6	8.0	10.0

Tabelle 7

Vergleich der Spaltung von α -Crotonyl- β -, α -Oleyl- β -, Dicrotonyl-, Dioleyl-glycerin-phosphorsäure, L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin und Äthanolaminphosphat durch Thorium

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 bzw. 0.00005 bzw. 0.0001 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{p}_\text{H} = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reaktionsdauer (Std.)	α -Crotonyl- β -glycerin-phosphorsäure			α -Oleyl- β -glycerin-phosphorsäure			L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	5.6	9.7	0	2.0	8.0	1.5	5.3	9.7
3	0.6	13.0	22.3	0	6.5	13.3	2.4	10.1	18.9
6	2.4	20.0	34.0	0	9.0	24.2	3.2	15.1	29.0
24	4.5	41.0	67.0	1.5	24.2	47.0	4.8	27.4	47.6
48	5.6	57.3	77.0	2.4	33.0	60.0	5.6	33.9	54.9
72	9.0	62.0	83.0	3.0	40.0	67.0	7.2	35.6	56.5
144	12.0	17.0	90.0	7.0	55.5	-	11.0	41.6	58.0

Reaktionsdauer (Std.)	Dicrotonyl-glycerin-phosphorsäure			Dioleyl-glycerin-phosphorsäure			Äthanolaminphosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	4.8	9.5	0	1.5	5.6	5.6	24.0	33.2
3	0	10.5	21.0	0	3.2	9.0	6.1	34.4	61.6
6	1.5	17.5	33.2	0	5.0	12.5	8.9	48.0	75.8
24	3.2	38.0	62.2	0	15.7	29.0	13.0	63.7	82.0
48	4.0	52.0	76.0	2.5	25.0	40.0	17.0	84.0	95.0
72	4.8	56.5	80.0	3.2	35.0	49.0	19.3	92.0	-
144	7.2	70.0	-	5.6	51.5	-	-	-	-

Tabelle 8

Vergleich der Spaltung von α -Crotonyl- β -, α -Oleyl- β -, Dicrotonyl-, Dioleyl-glycerin-phosphorsäure, L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin und Äthanolaminphosphat durch Zirkonium

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0,00001 Mol Ester, 0,00001 bzw. 0,00005 bzw. 0,0001 Mol $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8,6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reaktionsdauer (Std.)	α -Crotonyl- β -glycerin-phosphorsäure			α -Oleyl- β -glycerin-phosphorsäure			L- α -Glyceryl-phosphoryläthylenchlorhydrin		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0.8	2.8	2.4	0	0	1.6	0	0	0.8
3	2.4	5.0	6.4	0	0.8	2.4	0	0.8	1.3
6	3.2	6.4	10.5	0	0.8	3.2	0.5	1.3	2.4
24	4.8	10.5	18.5	0	1.6	6.0	1.1	2.7	4.5
48	5.6	13.3	22.6	0.8	4.7	13.2	1.8	4.5	6.5
72	7.5	16.9	27.4	1.6	7.3	16.5	2.4	4.8	8.7
144	8.8	21.3	35.0	2.2	12.2	26.0	3.6	14.0	26.8

Reaktionsdauer (Std.)	Dicrotonyl-glycerin-phosphorsäure			Dioleyl-glycerin-phosphorsäure			Äthanolaminphosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1.6	0	0	0.8	1.8	2.2	4.2
3	0.5	3.0	6.0	0	0	2.4	2.8	4.2	17.5
24	0.8	7.3	15.3	0	1.5	4.8	3.2	10.6	37.1
48	1.0	8.4	20.0	0.5	4.0	11.3	3.9	17.7	42.6
72	1.6	8.9	24.2	1.5	6.0	13.0	4.1	19.4	46.8
144	2.5	13.7	32.2	2.0	10.5	21.0	5.4	21.0	55.7

Den Einfluss von Lanthan-, Cer-, Thorium- und Zirkonium-Salzen auf die Blutgerinnung gibt folgende Tabelle wieder:

Tabelle 9

Beeinflussung der Blutgerinnung durch Salze des Lanthans,
Cers, Thoriums und Zirkoniums [†])

(Die Zahlen geben die Zeit in Sekunden an (Mittelwerte), die von der Zugabe der CaCl_2 -Lösung bis zum Eintritt einer Gerinnungsbildung gemessen wurde)

Metallsalz-Lösungen	Die Zugabe von CaCl_2 -Lösung erfolgte:		
	sofort	nach 1 min	nach 30 min
Physiolog-NaCl-Lösg.	10	10	10
Lanthan-Lösung	über 1 Stde.	über 1 Stde.	über 1 Stde.
Cer-Lösung	60	210	über 1 Stde.
Thorium-Lösung	15	15	15
Zirkonium-Lösung	15	15	15

Den in der Tabelle 9 zusammengestellten Ergebnissen ist zu entnehmen, dass Thorium- und Zirkonium-Ionen die Gerinnung praktisch nicht beeinflussen. Dem gegenüber führt die Anwesenheit von Lanthan-Ionen zu einer Ungerinnbarkeit des Blutes über einen Zeitraum von mehr als einer Stunde, wobei es gleichgültig ist, ob die Zugabe der CaCl_2 -Lösung zum Reaktionsgemisch unmittelbar nach dem Zusammengeben von Blutplasma, Thromboplastin-Lösung und Metallsalz-Lösung oder einminütigem oder nach 30minütigem Stehen des Reaktionsgemisches erfolgt. Auffallend und noch keiner Erklärung zugänglich ist die Beobachtung, dass im Falle der Anwendung von Cer(III)-Salzlösungen die Dauer der Ungerinnbarkeit verschieden ist je nach dem der Zusatz der CaCl_2 -Lösung sofort, nach 1 Minute oder nach 30 Minuten erfolgt. Die Dauer der Ungerinnbarkeit steigt hier von 60 Sekunden zu 210 Sekunden bzw. über eine Stunde an.

[†]) Test: Zu 0.1 ccm Blutplasma, 0.1 ccm Thromboplastin-Lösung "Roche" und 0.1 ccm einer 0.002molaren (in physiologischer Kochsalzlösung) Metallsalz-Lösung gibt man nach verschiedenen Zeiten 0.1 ccm einer m/40 CaCl_2 -Lösung. Alle Lösungen müssen auf 37°C vorgewärmt sein.

D. Methodik

I. Angaben zu den metallionen-katalytischen Versuchen

1. Substrate:

Mono-Methylphosphat als $\text{CH}_3\text{O}_4\text{PbA}$ (247.37) dargestellt nach J. CAVALIER (36),
nach Überführung in das K-Salz;

Mono-Äthylphosphat als $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_4\text{PbA}$ (261.40) dargestellt nach J. CAVALIER (36),
nach Überführung in das K-Salz;

Mono-n-Propylphosphat als $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_4\text{PbA}$ (275.43) dargestellt nach K. ASAKAWA
(3), nach Überführung in das K-Salz;

Mono-iso-Propylphosphat als $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_4\text{PbA}$ (275.43) dargestellt nach K. ASAKA-
WA (3), nach Überführung in das K-Salz;

Mono-Phenylphosphat als $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_4\text{PNa}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (254.10) p.a. E. Merck, Darmstadt
(List.Nr. 3108);

Äthanolaminphosphat als $\text{C}_2\text{H}_8\text{O}_4\text{NP}$ (141.07) dargestellt nach E. CHERBULIEZ
u. H. WENIGER (37);

Glycerin- α -phosphorsäure als $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PCa} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (246.20), E. Merck, Darm-
stadt (List.Nr. 4111);

Glycerin- β -phosphorsäure als $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_6\text{PNa}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (306.14), Farbenfabriken
Bayer, Leverkusen;

L- α -Glycerylphosphoryläthylenchlorhydrin als $(\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_6\text{PCl})_2\text{Ba}$ (604.5)
dargestellt nach E. BAER, D. BUCHNEA u. A. G. NEWCOMBE (4), nach
Überführung in das K-Salz;

α -Crotonyl- β -glycerinphosphorsäure als $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_7\text{PNa}_2$ (284.12) dargestellt
nach H. ARNOLD (2);

Dicrotonyl-Glycerinphosphorsäure als $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_8\text{PNa}_2$ (352.12) dargestellt nach
Th. WAGNER-JAUREGG u. H. ARNOLD (65);

α -Oleyl- β -glycerinphosphorsäure als $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{O}_7\text{PNa}_2$ (480.5) dargestellt
nach H. ARNOLD (2);

Dioleyl-glycerinphosphorsäure als $\text{C}_{39}\text{H}_{71}\text{O}_8\text{PNa}_2$ (744.95) dargestellt nach
Th. WAGNER-JAUREGG u. H. ARNOLD (65);

Kephalin purum (Fluka List. Nr. 40769);

Thrombokinase "Roche" (Präparat der S. A. F. Hoffmann-La Roche u. Co.
Ltd. Basel/Schweiz);

2. Metallsalze:

$\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	(E. Merck List.Nr. 2271);
$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O p.a.}$	(E. Merck List.Nr. 2274);
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O p.a.}$	(E. Merck List.Nr. 2554);
HfO_2 99.9%	(Fluka List.Nr. 3769e) aufgeschlossen als Sulfat;
$\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O p.a.}$	(E. Merck List.Nr. 5326);
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	(E. Merck List.Nr. 6743);
$\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	(Riedel de Haen List.Nr. 14783);
$(\text{TiO})\text{SO}_4$	(E. Merck List.Nr. 8305);
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O p.a.}$	(E. Merck List.Nr. 8883);
$\text{ZrOCl}_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O p.a.}$	(Riedel de Haen List.Nr. 31670).

3. Der Versuchsansatz:

Der Versuchsansatz von 10 ccm enthielt 0.00001 Mol Substrat, Metallsalzlösung in der jeweils angegebenen Konzentration, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5n Ammoniumchlorid-Lösung, mit n bzw. 0.1n HCl auf das gewünschte p_{H} eingestellt. War eine grosse Anzahl Messungen vorgesehen, so betrug der Ansatz ein Mehrfaches von 10 ccm. Die Zugabe der Reaktionspartner erfolgte nach "Zugabefolge B" (15).

Bei Substraten, die kein genau definiertes Molekulargewicht besitzen, wie im Falle des Kephaling und der Thrombokinas "Roche", ist die zum Versuchsansatz verwendete Substanzmenge auf g-Atom P berechnet worden.

Die Reaktionsgemische wurden in Schüttelkolben, die mit eingeschliffenen Glasstöpseln versehen waren, im Schüttelthermostaten bei 37°C bzw. im Ruhethermostaten bei 70°C (unter gelegentlichem Umschütteln) aufbewahrt. Bei Anwendung von frisch destilliertem Wasser konnte bei den Versuchsansätzen der Zusatz eines Konservierungsmittels erfahrungsgemäss unterbleiben.

Die dem Reaktionsgemisch zu verschiedenen Messzeiten entnommenen Proben betrugen in der Regel 4 ccm, bei fortgeschrittener Spaltung der Substrate nur 2 ccm.

4. Bestimmung des anorganischen Phosphats:

Das bei der Spaltung der phosphorhaltigen Substrate entstehende anorganische Phosphat bestimmten wir nach der Methode von C. H. FISKE u. Y. SUBBAROW (48), modifiziert von K. SCHRIEVER, E. BAMANN u. R. TOUSSAINT (56) mittels eines lichtelektrischen Kolorimeters Modell J nach B. LANGE (19). Die Proben wurden 20 Minuten lang bei 37°C entwickelt. Wenn bei der Zugabe der Molybdän-

schwefelsäure eine Trübung auftrat, entfernten wir sie nach der Entwicklung - also vor der kolorimetrischen Bestimmung - durch Zentrifugieren.

5. Allgemeines:

Für alle Versuche sind in entsprechenden Blindversuchen die evtl. Eigenspaltungen des Substrates ermittelt. Sie waren durchweg gering und sind von den in den Hauptversuchen gefundenen Hydrolysewerten in Abzug gebracht worden.

II. Angaben zu den Gerinnungsversuchen

1. Fraktionierung und Rekombinierung der Thrombokinasen:

Thrombokinasen "Roche" wurde im Soxhletapparat mit einem Äther-Alkoholgemisch (1 : 1) extrahiert. Auf diese Weise erhielt man eine erste, in der Äther-Weingeist-Mischung unlösliche Fraktion, die die Proteine enthielt, ferner eine zweite, lösliche Fraktion, mit den Lipoiden.

Die Beimengung der von uns zu Gerinnungsbestimmungen ausersehenen Substrate zur Eiweiss-Fraktion vollzog sich leicht und ergab eine homogene Suspension (58). Das Lipoid war in 0.1 bis 1.0 ccm Chloroform gelöst. Ein entsprechend der gewünschten Lipoidmenge (10 mg Lipoid auf 10 mg Eiweiss) abgemessenes Volumen dieser Lösung fügte man zur Eiweiss-Fraktion. Das Chloroform wurde schliesslich durch Eindunsten der Mischung im Vakuum entfernt.

2. Gerinnungsanalytische Bestimmungsmethode:

0.1 ccm mit physiologischer NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 2 verdünntes Citratplasma aus Kaninchenblut (auf 37°C vorgewärmt) und 0.1 ccm der Thrombokinasen-Suspension (auf 37°C vorgewärmt) werden in ein Mikroeagenzglas (8 x 50 mm) einpipettiert. Nach einem Verweilen von 30 Sekunden im Gerinnungsthermostaten (nach J. JÜRGENS u. F. K. BELLER (51)) bei 37°C erfolgt die Zugabe von 0.1 ccm einer gleichfalls auf 37°C angewärmten m/40 CaCl₂-Lösung.

Die Gerinnungszeit wurde mit der Stoppuhr bestimmt, gemessen vom Zeitpunkt der Zugabe der CaCl₂-Lösung bis zum Eintritt einer Gerinnselbildung. Die Feststellung der Plasmagerinnung erfolgte mit Hilfe einer Platindrahtöse (Kolle-Öse) (51).

3. Reagenzien:

Physiologische NaCl-Lösung: 0.9%

Natriumcitratlösung: 0.1molar = 3.6% C₃H₄OH(CO₂Na)₃ · 5½ H₂O (357.1):

3.57 g Natrium citricum neutrale Erg. Bd. 6 wurden in einer 0,5proz. wässrigen Phenollösung zu 100 ccm gelöst, in Ampullenflaschen mit Gummikappe abgefüllt und nach den Angaben des D. A. B. 6 sterilisiert.

Calciumchloridlösung 1/40molar:

0.55 g Calcium chloratum crist. Erg. Bd. 6 wurden in dest. Wasser zu 100 ccm gelöst.

Thromboplastin-Lösung "Roche": Präparat der Deutschen Hoffmann-La Roche A.G. Grenzach/Baden

Thrombokinese "Roche": Präparat der S. A. F. Hoffmann-La Roche u. Co. Ltd. Basel/Schweiz.

4. Blutplasmagewinnung:

Die Blutentnahme erfolgte unter sterilen Bedingungen aus der Vene am Ohr-
rand eines Kaninchens. In eine sterile Record-Spritze, die genau 0.2 ccm Citrat-
lösung enthält, saugte man genau 1.8 ccm Venenblut. Die so erhaltenen 2 ccm
"Citratblut" wurden in ein Reagenzglas eingespritzt und durch kurzes Schütteln
gut gemischt. Alsdann erfolgte die Trennung des Blutgemisches in Plasma und
Sediment durch Zentrifugieren bei etwa 4000 Umdrehungen.

Die Thrombokinese "Roche" und die Thromboplastin-Lösung "Roche" ver-
danken wir dem grosszügigen Entgegenkommen der Firmen:

Deutsche Hoffmann-La Roche A.G. Grenzach/Baden, S. A. F. Hoffmann-La Roche
u. Co. Ltd. Basel/Schweiz.

E. Zusammenfassung

Bei der Dephosphorylierung von Mono-Estern der Phosphorsäure mittels Ionen der Elemente der vierten Nebengruppe des Periodensystems wird neben guter Wirksamkeit im alkalischen Bereich eine überraschend gute katalytische Aktivität im sauren Gebiet festgestellt. Die phosphatatische Wirksamkeit nimmt mit steigendem Atomgewicht der Elemente vom Titan $\rightarrow$ Zirkonium $\rightarrow$ Hafnium $\rightarrow$ Thorium zu.

Charakteristisch für die aliphatischen Substrate ist das Vorhandensein eines pH-Wirkungs-Optimums im sauren Bereich und zweier p_H-Wirkungs-Optima im alkalischen Gebiet.

Das Ausmass des Esterumsatzes ist sowohl von der Kettenlänge des organischen Restes, als auch vom Vorhandensein aktiver Gruppen in der Estermolekel abhängig.

Phenylphosphat wird bedeutend rascher zerlegt als die aliphatischen Substrate; ein p_H-Wirkungs-Optimum ist jedoch bei diesem aromatischen Ester in saurem p_H-Bereich nicht vorhanden, die Spaltung nimmt von p_H=2 bis p_H = 8, wo das Optimum liegt, kontinuierlich zu.

Bei der Hydrolyse mittels Thorium-Ionen wird im sauren Milieu im Bereich des p_H-Wirkungs-Optimums ein bestimmtes Konzentrationsverhältnis von Substrat zu Katalysator als für die Spaltung besonders günstig erkannt. Eine Veränderung dieses optimalen Verhältnisses hat geringeren Ester-Umsatz zur Folge. Für dieses Verhalten erachten wir die verschiedenen kondensierten Komplexe der Thorium-Hydroxyde als verantwortlich, weil sie von entscheidender Bedeutung für die Bildung des Reaktionszwischenproduktes sind.

Auch biologisch wichtige Phosphorsäure-Ester, die bei der Blutgerinnung eine Rolle spielen, unterliegen unter physiologischen Bedingungen dem phosphatatisch-katalytischen Einfluss der Ionen der seltenen Erdmetalle sowie des Thoriums und Zirkoniums.

Die Annahme, dass die seltenen Erdmetalle in ihrer blutgerinnungshemmenden Eigenschaft über den phosphathaltigen Anteil der Thrombokinasen wirken, muss verneint werden, vor allem weil Thorium und Zirkonium gleichfalls eine phosphatatisch-katalytische Fähigkeit besitzen, jedoch die Blutgerinnung weder in vivo noch in vitro beeinflussen.

F. Anhang für Kurven und Tabellenmaterial

Die hier aufgeführten Kurven und Tabellen dienen der
Dokumentation des ersten Teils dieser Arbeit

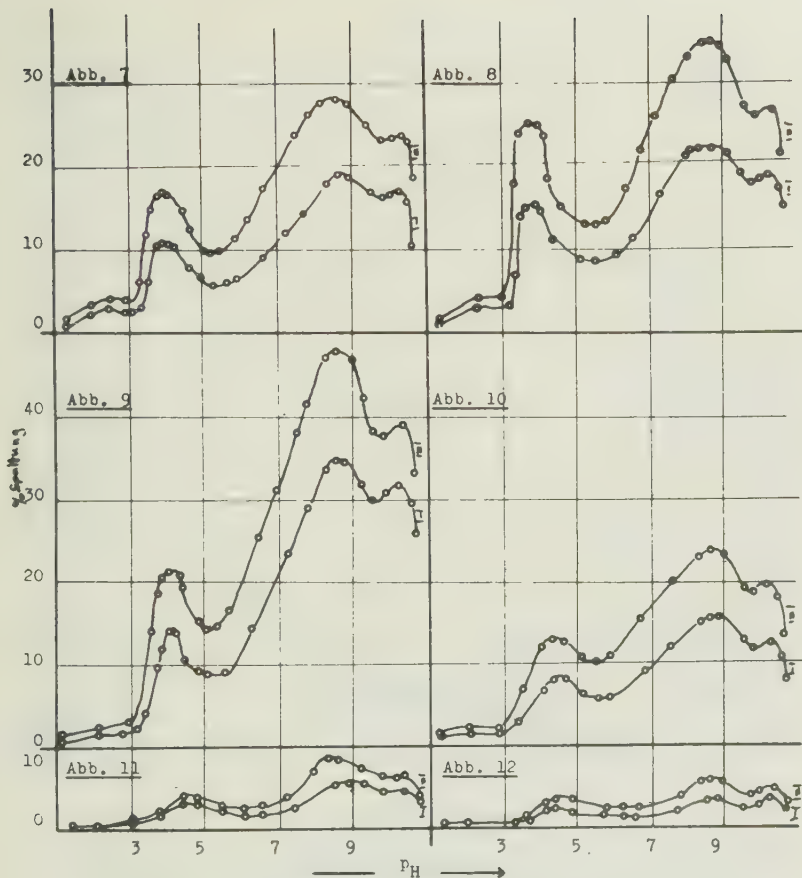


Abbildung 7 bis 12

Aktivitäts- p_H -Kurven bei der Spaltung von Glycerin- α - (Abb.7), Glycerin- β -phosphorsäure (Abb.8), Aethanolamin- (Abb.9), Mono-Methyl- (Abb.10), Mono-Aethyl- (Abb.11) und Mono-n-Propyl-phosphat (Abb.12) mittels Thorium-Ionen (Substr.:Katal. = 1:5)

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00005 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 25. n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$; Reaktionsdauer: I = 3 Stunden, II = 6 Stunden).

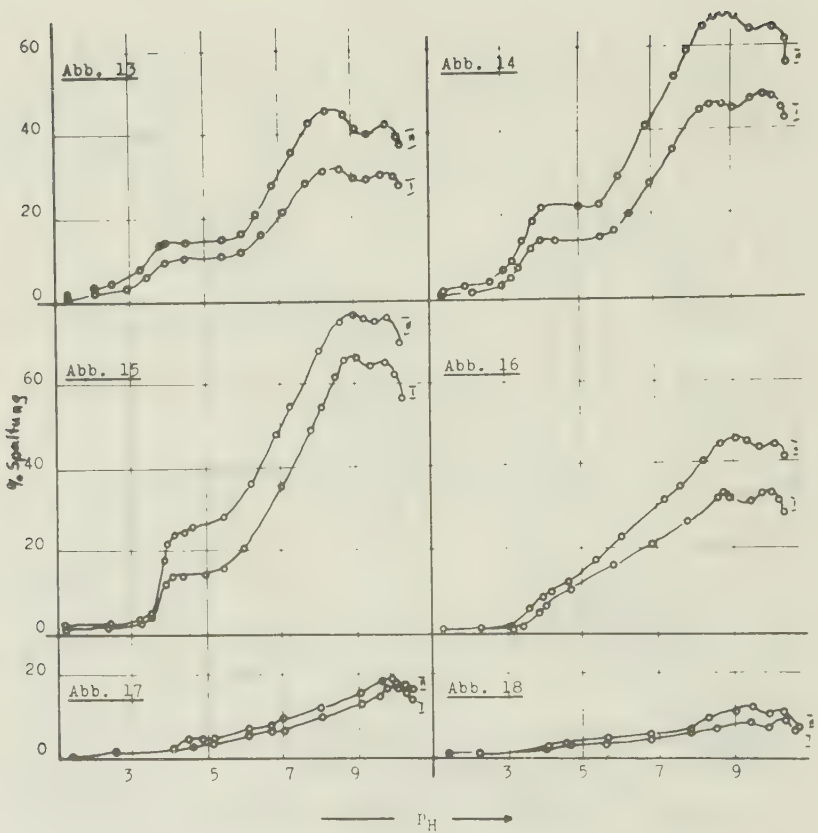


Abbildung 13 bis 18

Aktivitäts- p_H -Kurven bei der Spaltung von Glycerin- α - (Abb. 13), Glycerin- β -phosphorsäure (Abb. 14), Aethanolamin- (Abb. 15), Mono-Methyl- (Abb. 16), Mono-Aethyl- (Abb. 17), Mono-n-Propyl-phosphat (Abb. 18) mittels Thorium-Ionen (Substr.:Katal. = 1:10)

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.0001 Mol $Th(NO_3)_4 \cdot 4H_2O$, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$; Reaktionsdauer: I = 3 Stunden, II = 6 Stunden).

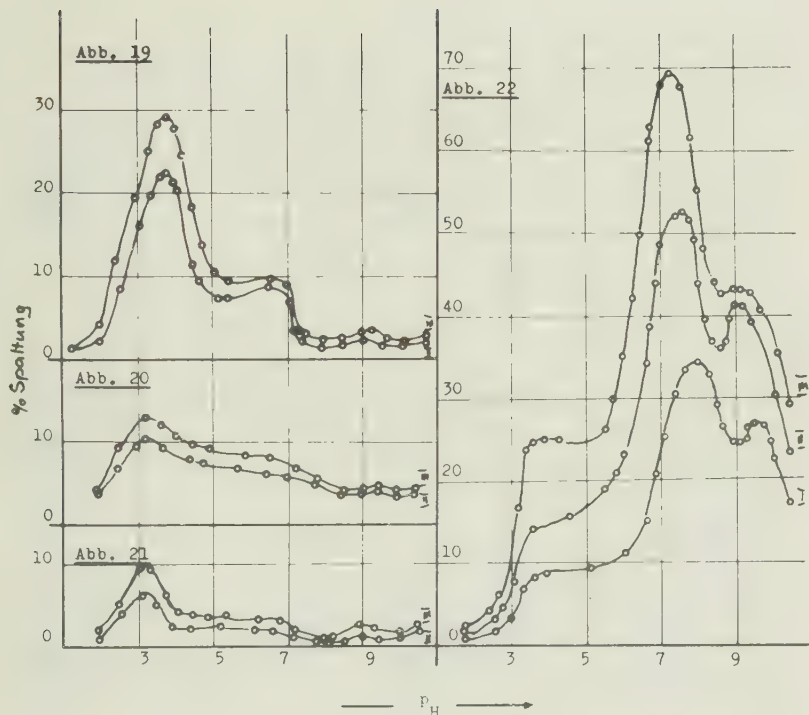


Abbildung 19 bis 22

Aktivitäts-p_H-Kurven bei der Spaltung von Glycerin-α-phosphorsäure (Abb.19), Mono-Methyl-phosphat (Abb.20), L-α-Glycerolphosphoryl-aethylenchlorhydrin (Abb.21) und Phenyl-phosphat (Abb.22) mittels Thorium-Ionen (Substr.:Katal. = 1:1)

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 Mol Th(NO₃)₄·4H₂O, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zu abefolge B; t = 37°C; Reaktionsdauer: I = 1 Stunde, II = 3 Stunden, III = 6 Stunden).

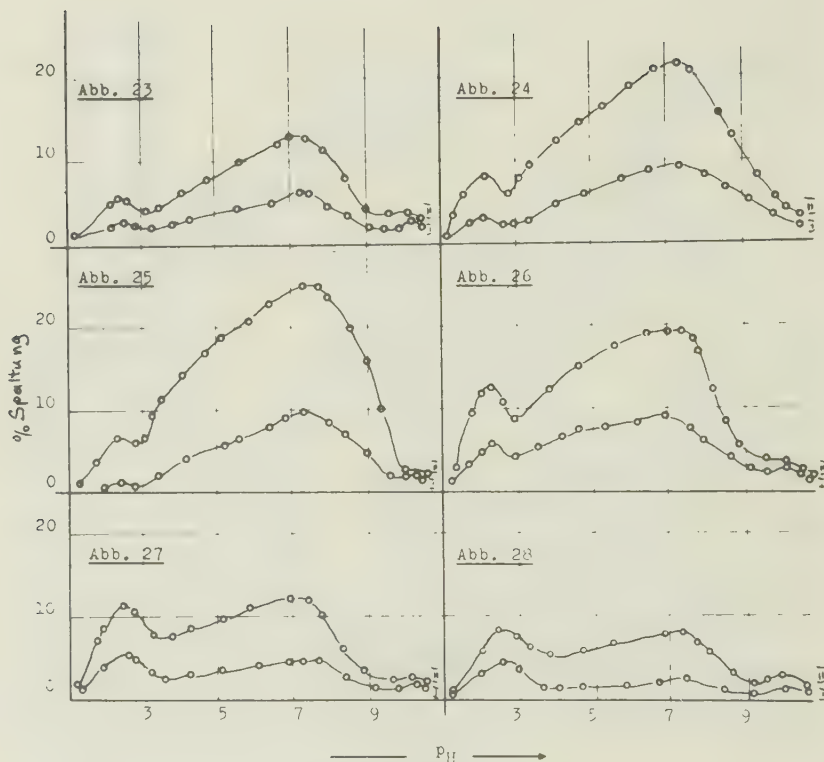


Abbildung 23 bis 28

Aktivitäts- p_H -Kurven bei der Spaltung von Glycerin- α - (Abb.23), Glycerin- β -phosphorsäure (Abb.24), Aethanolamin- (Abb.25), Mono-Methyl- (Abb.26), Mono-Aethyl- (Abb.27) und Mono-n-propyl-phosphat (Abb.28) mittels Zirkonium-Ionen (Substr.:Katal. = 1:5)

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00005 Mol $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$; Reaktionsdauer: I = 6 Stunden, II = 24 Stunden).

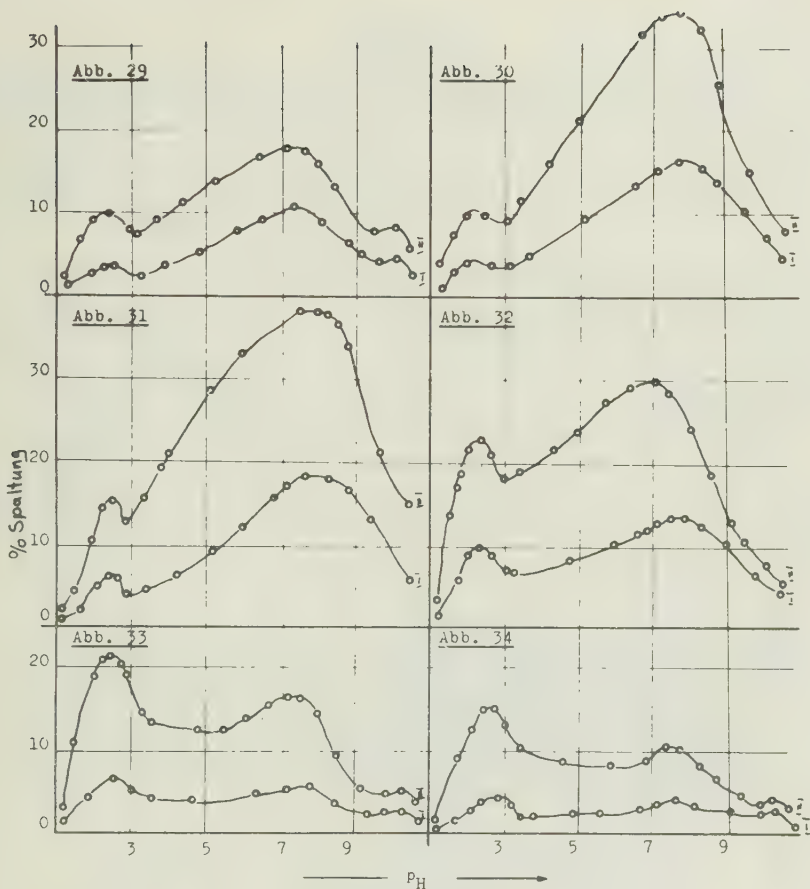


Abbildung 29 bis 34

Aktivitäts- p_H -Kurven bei der Spaltung von Glycerin- α - (Abb.29), Glycerin- β -phosphorsäure (Abb.30), Aethanolamin- (Abb.31), Mono-Methyl- (Abb.32), Mono-Aethyl- (Abb.33) und Mono-n-Propyl-phosphat (Abb.34) mittels Zirkonium-Ionen (Substr.:Katal. = 1:10)

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.0001 Mol $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-luffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$; Reaktionsdauer: I = 6 Stunden, II = 24 Stunden).

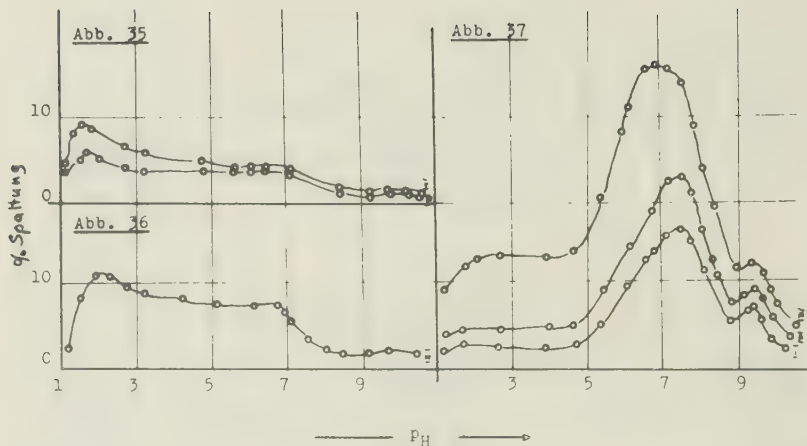


Abbildung 35 bis 37

Aktivitäts- p_H -Kurven bei der Spaltung von Glycerin- γ -phosphorsäure (Abb. 35), Mono-Methyl- (Abb. 36) und Mono-Phenyl-phosphat (Abb. 37) mittels Zirkonium-Ionen (Substr.:Katal. = 1:1)

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 Mol $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$, 2 ccm 2.5 n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer bzw. 2.5 n Ammoniumchlorid-Lösung mit n bzw. 0.1 n HCl auf das gewünschte p_H eingestellt; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$);

Reaktionsdauer: I = 1 Stunde
 II = 3 Stunden
 III = 6 Stunden
 IV = 24 Stunden
 V = 48 Stunden

Tabelle 10

Vergleich der Spaltung von Mono-Methyl-, Mono-Äthyl-, Mono-n-Propyl-phosphat, Glycerin- α - und Glycerin- β -phosphorsäure durch 3wertiges Cer

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 bzw. 0.00005 bzw. 0.0001 Mol $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reak- tions- dauer (Std.)	Mono-Methyl- phosphat			Mono-Äthyl- phosphat			Mono-n-Propyl- phosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1.0	26.6	47.6	0.5	12.5	21.0	0.3	12.3	20.6
3	2.6	37.9	75.2	1.3	20.3	47.5	1.0	17.8	32.0
6	3.9	43.5	85.4	2.7	31.4	61.2	2.1	25.2	40.4
24	11.5	59.2	89.9	6.8	54.7	75.5	5.7	48.7	72.5
48	14.5	66.0	-	10.5	61.2	80.0	7.3	52.1	75.2
72	16.4	72.4	-	14.2	68.8	-	8.0	55.6	77.1
144	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Reak- tions- dauer (Std.)	Glycerin- α - phosphorsäure			Glycerin- β - phosphorsäure		
	Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0
1	1.2	24.2	62.2	1.8	40.4	71.0
3	2.5	48.4	80.0	2.9	68.8	90.2
6	4.7	62.5	88.3	5.4	76.2	-
24	9.0	85.2	91.5	9.7	90.0	-
48	14.6	90.7	-	16.2	91.2	-
72	16.5	-	-	22.1	95.0	-
144	20.2	-	-	26.0	-	-

Tabelle 11

Vergleich der Spaltung von Mono-Methyl-, Mono-Äthyl-, Mono-n-Propyl-phosphat, Glycerin- α - und Glycerin- β - phosphorsäure durch 4wertiges Cer

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0,00001 Mol Ester, 0,00001 bzw. 0,00005 bzw. 0,0001 Mol $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reaktions- dauer (Std.)	Mono-Methyl- phosphat			Mono-Äthyl- phosphat			Mono-n-Propyl- phosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1.1	6.2	11.3	0	1.6	4.4	0	3.1	4.8
3	2.0	13.2	25.8	0.3	3.7	9.7	0	3.9	6.3
6	3.7	22.9	41.8	0.8	4.4	17.0	0	4.4	10.8
24	4.8	48.7	82.5	1.3	16.1	46.8	0.5	9.4	29.0
48	5.6	70.2	90.3	1.5	21.0	62.9	1.1	12.9	40.4
72	8.0	85.6	96.0	1.6	22.6	64.6	1.3	14.5	49.0
144	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Reaktions- dauer (Std.)	Glycerin- α - phosphorsäure			Glycerin- β - phosphorsäure		
	Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0
1	1.1	6.5	14.5	1.3	7.7	27.1
3	2.0	13.5	32.6	2.4	17.6	55.7
6	3.9	25.2	53.2	4.2	28.1	89.7
24	5.2	50.0	90.0	5.0	52.5	97.3
48	6.3	69.7	-	7.4	74.7	-
72	9.1	83.9	-	10.2	89.2	-
144	-	-	-	-	-	-

Tabelle 12

Vergleich der Spaltung von Mono-Methyl-, Mono-Äthyl-, Mono-n-Propyl-phosphat, Glycerin- α - und Glycerin- β -phosphorsäure durch Lanthan

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 bzw. 0.00005 bzw. 0.0001 Mol $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reak- tions- dauer (Std.)	Mono-Methyl- phosphat			Mono-Äthyl- phosphat			Mono-n-Propyl- phosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0
6	0	0.6	0.7	0	0	0	0	0	0
24	0.8	1.6	2.1	0	0	0	0	0	0
48	1.6	3.2	3.5	0	0.6	1.5	0	0	0
72	2.0	4.5	5.6	0	1.0	2.8	0	0	0
144	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Reak- tions- dauer (Std.)	Glycerin- α - phosphorsäure			Glycerin- β - phosphorsäure		
	Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0
1	0	2.4	3.2	0	4.8	6.4
3	0.5	4.8	6.1	0.8	11.3	13.7
6	0.8	6.2	10.7	1.2	23.2	28.3
24	3.2	24.8	26.6	3.9	54.0	58.9
48	4.3	39.8	43.0	8.7	69.0	72.6
72	5.2	50.4	63.0	14.2	74.7	92.0
144	6.7	75.2	-	20.0	87.8	-

Tabelle 13

Vergleich der Spaltung von Mono-Methyl-, Mono-Äthyl-, Mono-n-Propyl-, Mono-Phenyl-phosphat, Glycerin- α - und Glycerin- β -phosphorsäure durch Thorium

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0,00001 Mol Ester, 0,00001 bzw. 0,00005 bzw. 0,0001 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2,5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $\text{pH} = 8,6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reaktions- dauer (Std.)	Mono-Methyl- phosphat			Mono-Äthyl- phosphat			Mono-n-Propyl- phosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1.6	6.5	10.4	1.3	3.2	3.7	0.8	2.4	2.9
3	2.9	15.5	27.4	1.6	5.5	9.2	1.2	3.6	5.5
6	3.2	23.3	40.0	1.8	8.1	14.3	1.6	5.7	9.1
24	4.0	42.0	63.0	2.6	11.3	28.2	2.2	10.5	21.0
48	4.9	51.5	74.2	2.8	17.0	38.5	2.6	14.5	28.1
72	5.6	57.5	75.6	3.1	19.6	47.5	2.9	18.5	33.8
144	9.7	-	-	-	-	-	-	-	-

Reaktions- dauer (Std.)	Mono-Phenyl- phosphat			Glycerin- α - phosphorsäure			Glycerin- β - phosphorsäure		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	25.8	96.0	97.0	2.1	8.5	14.7	3.5	12.7	27.4
3	36.1	-	-	3.7	19.2	30.6	4.9	22.4	44.0
6	42.6	-	-	4.2	28.1	45.2	6.2	35.1	64.0
24	61.0	-	-	6.5	40.0	63.8	8.1	52.4	75.4
48	66.4	-	-	8.8	54.8	78.0	12.0	68.0	87.0
72	69.0	-	-	9.6	62.5	83.0	16.2	77.0	91.0
144	74.0	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 14

Vergleich der Spaltung von Mono-Methyl-, Mono-Äthyl-, Mono-n-Propyl-, Mono-Phenyl-phosphat, Glycerin- α - und Glycerin- β -phosphorsäure durch Zirkonium

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 bzw. 0.00005 bzw. 0.0001 Mol $ZrOCl_2 \cdot 8 H_2O$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $pH = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ C$)

Die Zahlen geben die Spaltung der Ester in Prozenten an.

Reaktions- dauer (Std.)	Mono-Methyl- phosphat			Mono-Äthyl- phosphat			Mono-n-Propyl- phosphat		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0.8	1.6	3.4	0	0.5	2.4	0	0	0.8
3	1.3	2.4	6.4	0.3	0.8	3.2	0	0.5	1.0
6	1.5	4.8	11.2	0.9	1.6	4.0	0.8	1.3	2.8
24	2.0	12.0	25.0	1.3	3.8	10.5	1.2	3.0	6.4
48	2.4	13.2	27.4	1.6	5.0	12.5	1.6	3.2	8.8
72	3.0	13.7	32.2	2.0	6.0	13.7	1.8	3.7	10.5
144	3.2	16.1	35.5	2.4	7.3	15.3	2.1	4.8	12.0

Reak- tions- dauer (Std.)	Mono-Phenyl- phosphat			Glycerin- α - phosphorsäure			Glycerin- β - phosphorsäure		
	Katalysator			Katalysator			Katalysator		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	7.7	26.1	65.4	0.8	1.6	2.4	1.6	2.6	3.7
3	9.5	43.2	82.5	1.6	2.4	4.5	2.0	4.7	7.2
6	15.9	61.3	93.6	2.1	3.2	7.1	2.4	6.1	14.5
24	23.8	68.7	-	2.4	5.8	13.2	3.0	13.3	31.9
48	29.7	71.3	-	3.0	7.4	14.7	4.1	15.3	39.7
72	33.9	74.0	-	3.2	8.0	16.0	5.2	17.0	42.6
144	35.5	79.0	-	3.5	10.5	19.3	6.7	19.3	48.7

Tabelle 15

Spaltung von Mono-iso-Propyl-phosphat durch Thorium- und Zirkonium-Ionen

(Der Vers. Ans. von 10 ccm enth. 0.00001 Mol Ester, 0.00001 bzw. 0.00005 bzw. 0.0001 Mol $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ bzw. $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$, 2 ccm 2.5n Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer $p_{\text{H}} = 8.6$; Zugabefolge B; $t = 37^\circ\text{C}$)

Die Zahlen geben die Spaltung des Esters in Prozenten an.

Reak- tions- dauer (Std.)	Thorium			Zirkonium		
	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
	Mol			Mol		
0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
6	0	0.5	2.4	0	0.5	0.8
24	0	1.1	4.8	0	0.8	1.2
48	0	1.9	6.0	0	0.9	1.8
72	0.8	2.7	7.7	0.5	1.5	2.4
144	1.0	3.2	9.7	0.8	2.4	3.2

G. Literaturverzeichnis

- (1) AJAZZI-MANZINI, M.: Arch.di Fisiol. 25, 2571 (1927)
- (2) ARNOLD, H.: Ber.dtsch.chem.Ges. 74, 1736 (1941)
- (3) ASAKAWA, K.: J.Biochemistry (Tokyo) 11, 143 (1929)
- (4) BAER, E., D.BUCHNEA u. A.G. NEWCOMBE: J.Amer.chem.Soc. 78, 232 (1956)
- (5) BAILLY, M.C.: Bull.Soc.chim.France 9, D 314 (1942)
- (6) BAMANN, E.: Dtsch.Apotheker-Ztg. 94, 528 (1954)
- (7) BAMANN, E.: Vortrag am 18. Dez. 1956, München Chem.Ges.
- (8) BAMANN, E.: Dtsch.Apotheker-Ztg. 97, 1103 (1957)
- (9) BAMANN, E. u. A. DETTER: Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 289/61, 428 (1956)
- (10) BAMANN, E., L.FERNANDEZ-SANCHEZ u. H. TRAPMANN: Chem.Ber. 88, 1846 (1955)
- (11) BAMANN, E., F.FISCHLER u. H. TRAPMANN: Biochem.Z. 325, 413 (1954)
- (12) BAMANN, E., F.FISCHLER, H. TRAPMANN u. K.H.EBERHARDT: Klin.Schr. 32, 588 (1954)
- (13) BAMANN, E., A.GERL, B.OECHSNER, J.RIEHL u. H. TRAPMANN: Naturwissenschaften 47, 106 (1960)
- (14) BAMANN, E., J.G.HAAS u. H. TRAPMANN: Naturwissenschaften 46, 73 (1959)
- (15) BAMANN, E. u. M.MEISENHEIMER: Ber.dtsch.chem.Ges. 71, 1711 (1938)
- (16) BAMANN, E. u. M.MEISENHEIMER: Ber.dtsch.chem.Ges. 71, 1980 (1938)
- (17) BAMANN, E. u. M.MEISENHEIMER: Ber.dtsch.chem.Ges. 71, 2086 (1938)
- (18) BAMANN, E. u. M.MEISENHEIMER: Ber.dtsch.chem.Ges. 71, 2233 (1938)
- (19) BAMANN, E. u. M.MEISENHEIMER: In E.BAMANN u. K.MYRBÄCK: Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig 1941, New York 1945, Seite 1605, 1640
- (20) BAMANN, E. u. W.-D.MÜTTERLEIN: Chem.Ber. 91, 471 (1958)
- (21) BAMANN, E. u. W.-D.MÜTTERLEIN: Chem.Ber. 91, 1322 (1958)
- (22) BAMANN, E. u. E.NOWOTNY: Chem.Ber. 81, 442 (1948)
- (23) BAMANN, E. u. E.NOWOTNY: Chem.Ber. 81, 451 (1948)
- (24) BAMANN, E. u. E.NOWOTNY: Chem.Ber. 81, 455 (1948)
- (25) BAMANN, E. u. E.NOWOTNY: Chem.Ber. 81, 463 (1948)
- (26) BAMANN, E., J.RIEHL u. R.NICOLAI: Biochem.Z. 328, 12 (1956)
- (27) BAMANN, E. u. A.SCHUEGRAF: Biochem.Z. 326, 507 (1955)
- (28) BAMANN, E. u. H. TRAPMANN: Biochem.Z. 326, 161 (1954/55)
- (29) BAMANN, E. u. H. TRAPMANN: Biochem.Z. 326, 237 (1954/55)
- (30) BAMANN, E. u. H. TRAPMANN: Chem.Ber. 88, 199 (1955)
- (31) BAMANN, E. u. H. TRAPMANN: Arch.Pharmaz.dtsch.pharmaz. Ges. 289/61, 338 (1956)

- (32) BAMANN, E. u. H. TRAPMANN: In F.F.NORD, Advances in Enzymology, Vol. XXI; Interscience Publishers, Inc. New York U.S.A. 1959 Seite 169
- (33) BAMANN, E., H. TRAPMANN u. F.FISCHLER: Biochem.Z. 326, 89 (1954)
- (34) BAMANN, E., H. TRAPMANN u. A.SCHUEGRAF: Chem.Ber. 88, 1726 (1955)
- (35) BUTCHER, W.W. u. F.H.WESTHEIMER: J.Amer.chem.Soc. 77, 2420 (1955)
- (36) CAVALIER, J.: Bull.Soc.Chim. (Paris) 19, 883 (1898)
- (37) CHERBULIEZ, E. u. H.WENIGER: Helv.chim.Acta 29, 2006 (1946)
- (38) DESJOBERT, A.: Bull.Soc.chim.France 14, D 809 (1947)
- (39) DESJOBERT, A.: C.R.hebd.Séances Acad.Sci. 224, 575 (1947)
- (40) DETTER, A.: Dissertation Universität München 1955
- (41) DIMROTH, K., H.WITZEL, W.HÜLSEN u. H.MIRBACH: Liebigs Ann. chem. 620, 94 (1959)
- (42) DYCKERHOFF, H., W.v.BEHM, N.GOOSENS u. H.MIEHLER: Biochem.Z. 288, 271 (1936)
- (43) DYCKERHOFF, H. u. O.GRÜNEWALD: Biochem.Z. 315, 124 (1943)
- (44) DYCKERHOFF, H. u. H.F.KÜRTE: Biochem.Z. 284, 111 (1936)
- (45) DYCKERHOFF, H. u. I.TORRES: Biochem.Z. 316, 31 (1943)
- (46) EGLI, H.: Dtsch.med.Wschr. 84, 2290 (1959)
- (47) FISCHLER, F. u. K.W.ROECKL: Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp. Pathol.pharmakol. 189, 1 (1938)
- (48) FISKE, C.H. u. Y.SUBBAROW: J.biol.Chemistry 66, 375 (1925)
- (49) GUBITZ, K.: Dissertation Universität München 1959
- (50) HAUSCHILD, F.: Pharmakologie u. Grundlagen der Toxikologie, Leipzig 1956, Seite 335
- (51) JÜRGENS, J. u. F.K.BELLER: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalysen, Stuttgart 1958, Seite 110
- (52) KRAUS, K.A. u. R.W.HOLMBERG: J.physic.Chem. 58, 325 (1954)
- (53) KRAUS, K.A. u. J.S.JOHNSON: J.Amer.chem.Soc. 75, 5769 (1953)
- (54) KUHN, R. u. P.KLESSE: Naturwissenschaften 44, 352 (1957)
- (55) LEFEBVRE, J.: J.chim.physique Physicochim.biol. 55, 227 (1958)
- (56) SCHRIEVER, K., E.BAMANN u. R.TOUSSAINT: Dtsch.Apotheker-Ztg. 97, 889 (1957)
- (57) STEIDLE, H.: Seltene Erdmetalle, in A.HEFFTER u. W.HEUBNER, Handb.d.exp. Pharmakologie III., 4. Berlin 1935
- (58) STUDER, A.: Festschrift Emil Barell 1946, Seite 229
- (59) TRAPMANN, H.: Arzneimittel-Forsch. 9, 341, 403 (1959)
- (60) VINCKE, E.: Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 272, 65 (1942)
- (61) VINCKE, E. u. H.E.NEVER: Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Pathol. Pharmakol. 197, 308 (1940)
- (62) VINCKE, E. u. H.A.OELKERS: Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Pathol. Pharmakol. 187, 594 (1937)

- (63) VINCKE, E. u. H. A. OELKERS: Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp. Pathol.Pharmakol. 188, 465 (1938)
- (64) VINCKE, E. u. E. SCHMIDT: Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 273, 39 (1942)
- (65) WAGNER-JAUREGG, Th. u. H. ARNOLD: Ber.dtsch.chem.Ges. 70, 1459 (1937); Dtsch.Reichs-Pat. 608074 vom 9.7.1932 (Hoffmann-La Roche A.G. Grenzach/Baden)
- (66) WIBERG, E.: In A.F. HOLLEMANN u. E. WIBERG, Lehrbuch der anorganischen Chemie (40.-46.) Berlin 1958, Seite 503

Lebenslauf

Am 10. Dezember 1931 wurde ich als zweiter Sohn des Apothekers Rudolf Oechsner und seiner Ehefrau Clara, geb. Haas, in Stuttgart geboren. Dort besuchte ich die Volksschule von Ostern 1938 bis 1942 und anschliessend die Oberschule für Jungen in Stuttgart-Feuerbach. Infolge der allgemeinen Evakuierung der Stuttgarter Schulen kam ich 1943 nach Ebingen/Württ. Im Jahre 1946 wurde der Unterricht in Stuttgart wieder aufgenommen. Dort trat ich in die Schickhardt-Oberschule ein. Das Reifezeugnis dieser Lehranstalt erhielt ich im Sommer 1951.

Am 15. September 1951 trat ich für ein halbes Jahr in die Hof-Apotheke in Stuttgart als Apothekerpraktikant ein. Die weiteren 1½ Jahre praktizierte ich in der Adler-Apotheke in Kirchheim/Teck. Am 17. September 1953 legte ich die pharmazeutische Vorprüfung in Stuttgart ab. Unmittelbar danach wurde ich im Wintersemester 1953/54 an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen immatrikuliert. Mein Studium in Tübingen schloss ich mit dem pharmazeutischen Staatsexamen am 29. Oktober 1956 ab. Nach einjähriger Kandidatenzeit in der väterlichen Apotheke in Stuttgart-Feuerbach erhielt ich am 31. Oktober 1957 die Bestallung als Apotheker.

Anschliessend begann ich mit der Ausführung der vorliegenden Arbeit am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Ludwig-Maximilians-Universität in München unter der Leitung seines Vorstandes, Herrn Professor Dr. E. BAMANN.

